

Utjecaj ranije zaustavljene alkoholne fermentacije na aromatski profil i boju vina sorte Cabernet Sauvignon

Molnar, Jasna

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:574021>

Rights / Prava: [In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-16**

REPOZITORIJ

PTF

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Jasna Molnar

**UTJECAJ RANIJE ZAUSTAVLJENE ALKOHOLNE FERMENTACIJE NA
AROMATSKI PROFIL I BOJU VINA SORTE CABERNET SAUVIGNON**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan, 2017.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Juraja Strossmayera u Osijeku

Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek

Zavod za prehrambene tehnologije

Katedra za prehrambeno inženjerstvo

Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Nastavni predmet: Tehnologija vina

Tema rada je prihvaćena na III. Izvanrednoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2016./2017. održanoj 3.srpnja 2017.

Mentor: izv.prof.dr.sc. Anita Pichler

Utjecaj ranije zaustavljene alkoholne fermentacije na aromatski profil i boju vina sorte Cabernet Sauvignon

Jasna Molnar, 368-DI, 2015.

Sažetak:

Vino se ubraja u najstarije poljoprivredno prehrambene proizvode. Glavna karakteristika koja određuje kakvoću vina i ima vrlo važnu ulogu prilikom odabira vina od strane potrošača je aroma. Ona potječe dijelom iz sirovine, alkoholne fermentacije, a dio nastaje odležavanjem i njegovanjem mladog vina. Pojedine komponente arome nastaju tijekom odležavanja vina, a pojedine postupno nestaju te na taj način vino mijenja svoja organoleptička svojstva. Miris vina tvore tisuće hlapljivih komponenata, međusobno povezanih, tvoreći komplekse. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi sadržaj aromatičnih spojeva, polifenola te antioksidacijsku aktivnost u vinima sorte Cabernet Sauvignon dobivenim različitim tehnološkim postupkom proizvodnje. Utvrđeno je da tehnološki postupak proizvodnje utječe na sadržaj aromatičnih spojeva, polifenola i na antioksidacijsku aktivnost u vinu. Rezultati analize vina pokazali su da je vino dobiveno potpunom fermentacijom imalo veći sadržaj alkohola, dok je vino dobiveno ranije prekinutom fermentacijom imalo veći sadržaj tvari arome koje potječu iz sirovine, grožđa. Također, vino proizvedeno ranije prekinutom fermentacijom imalo je veći sadržaj polifenola te antioksidacijsku aktivnost.

Ključne riječi: Cabernet Sauvignon, tvari arome, polifenoli, antioksidacijska aktivnost

Rad sadrži:	57	stranica
	11	slika
	3	tablica
	29	literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1.	prof. dr. sc. Mirela Kopjar	predsjednik
2.	izv. prof. dr. sc. Anita Pichler	član-mentor
3.	prof. dr. sc. Nela Nedić Tiban	član
4.	izv. prof. dr. sc. Natalija Velić	zamjena člana

Datum obrane: 28.09.2017.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Food Technologies
Subdepartment of Food Engineering
Franje kuhača 20, HR- 31000 Osijek, Croatia

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food technology

Course title: Wine technology

Thesis subject was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology Osijek at its extraordinary session no. III. held on July 3, 2017.

Mentor: Anita Pichler, PhD associate prof.

Influence of previously discontinued fermentation on the aromatic profile and the color of Cabernet Sauvignon wine

Jasna Molnar, 368-DI, 2015.

Summary:

Wine is one of the oldest agro-food products. The main characteristic that determines the quality of wine and plays a very important role in selecting wines by consumers is the aroma. It originates partially from raw material, alcoholic fermentation, and part of it is generated during aging and nurturing of young wine. Certain aroma components are formed during aging, but some of them gradually disappear, thus changing the wine's organoleptic properties. The smell of wine is formed by thousands of volatile components, interconnected, creating complexes. The aim of this study was to determine the content of aroma compounds, polyphenols and antioxidant activity in Cabernet Sauvignon wines obtained by various technological processes. It has been established that the technological process of production influences the content of aroma compounds, polyphenols and antioxidant activity in wine. The results of the wine analysis showed that the wine obtained by complete fermentation had a higher alcohol content, whereas the wine obtained by the previously discontinued fermentation had a higher content of aroma compounds derived from raw material, grapes. Also, the wine produced by the previously discontinued fermentation had a higher content of polyphenols and antioxidant activity.

Key words: Cabernet Sauvignon, aroma components, polyphenols, antioxidant activity

Thesis contains:	58	pages
	11	figures
	3	tables
	29	references

Original in: Croatian

Defense committee:

1. Mirela Kopjar, PhD, full prof.	chair person
2. Anita Pichler, PhD, associate prof.	supervisor
3. Nela Nedić Tiban, PhD full prof.	member
4. Natalija Velić, PhD, associate prof.	stand-in

Defense date: September 28, 2017

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology
Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek

Prije svega, zahvalila bih se svojim roditeljima koji su mi omogućili ovo školovanje i u svim trenucima bili ogromna podrška. Veliko hvala mom mužu Marku, koji je istrpio, što bi malo tko trpio 😊. Hvala i mom bratu Damiru na velikoj podršci. Također hvala svim kolegama i kolegicama koji su mi uljepšali i olakšali ove studentske dane.

I za kraj od srca se zahvaljujem svojoj mentorici izv. prof. dr.sc. Aniti Pichler, na uloženom trudu, vremenu i podršci. Jednako tako veliko hvala i asistentici Ivani Ivić.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. GROŽĐE	4
Podrijetlo i botanička svojstva vinove loze	4
Mehanička i kemijska svojstva	4
2.2. VINO	6
Definicija i podjela vina	6
Sorte grožđa za proizvodnju vina	8
2.3. KEMIJSKI SASTAV VINA	9
ALKOHOLI	9
UGLJIKOHIDRATI	10
KISELINE	11
ALDEHIDI I KETONI	12
ESTERI	13
TVARI AROME	13
ENZIMI	14
FENOLNI SPOJEVI	14
MINERALNE TVARI (PEPEO)	15
EKSTRAKT VINA	16
DUŠIČNE TVARI	16
KOLOIDI VINA	17
PROTEINI	17
2.4. PROIZVODNJA VINA	17
Proizvodnja crnih vina	18
2.5. ODREĐIVANJE SASTOJAKA AROME PLINSKOM KROMATOGRAFIJOM	21
Plinska kromatografija	21
Plin nositelj	22
Uređaj za unošenje uzorka (injektor)	23
Kromatografska kolona	23
Detektori	24
Spektrofotometrijska masa	24
SPME analiza	25
3. EKSPERIMENTALNI DIO	26
3.1. ZADATAK	27
3.2. MATERIJALI I METODE	27
Vino sorte Cabernet Sauvignon	27
Kemijska analiza vina	28
Analiza arome vina plinskom kromatografijom primjenom SPME analize	33
4. REZULTATI	36
5. RASPRAVA	42
6. ZAKLJUČCI	46
7. LITERATURA	48

Popis oznaka, kratica i simbola

SPME	Solid Phase Microextraction (mikroekstrakcija na čvrstoj fazi)
GC	Plinska kromatografija
GC/MS	Plinska kromatografija s maseno- selektivnim detektorom

1. UVOD

„Vino – kap Božanskog u svakodnevnom...”

Vinova loza je vrlo stara kultura. Na to ukazuju i pronađeni fosilni ostaci za koje je dokazano da su stari oko 60 milijuna godina, što se smatra i jednim od najvažnijih znanstvenih dokaza o postojanju vinove loze u tako dalekoj prošlosti. Kao najraniji pisani dokument iz vinogradarstva može se smatrati Biblija (Pichler, 2017).

Vinova loza (*lat. Vitis vinifera*) jedna je od najranije kultiviranih biljnih vrsta. Prema međunarodnom kodeksu botaničke kulture, pripada porodici Ampelideae ili Vitaceae. Osnovni dijelovi grozda su peteljka i bobica. Bobica se sastoji od kože, mesa i sjemenke. Zbog svojih fizioloških, kemijskih, senzorskih i drugih svojstava koristi se za potrošnju u svježem neprerađenom stanju, ali i kao sirovina za proizvodnju vina, alkoholnih, bezalkoholnih pića, te drugih proizvoda.

Vina se razvrstavaju u kvalitetne kategorije ovisno o kakvoći prerađenoga grožđa, prirodi po hektaru, stupnju zrelosti grožđa, prerade i njege, randmanu, količini prirodnog alkohola i drugih sastojaka te organoleptičkim svojstvima.

Cabernet Sauvignon jedna je od najpoznatijih vinskih sorti crnog grožđa nastala križanjem Cabernet Franca i Sauvignona bijelog. U naša vinogorja (ponajprije u Istri, i to na područje Poreštine i Pazinštine) stigao je 1880. godine iz njezine domovine Francuske (Bordeaux).

Bobica Cabernet Sauvignona je mala, tamno crna i debele pokožice, a u idealnim uvjetima dozrijevanja vrlo je aromatična. Sadržaj tanina je jako visok, a pulpa je bogata šećerom i kiselinama što Cabernet Sauvignon čini jako zahvalnom sortom za proizvodnju različitih tipova vina.

Cilj ovog istraživanja je ispitati, hoće li ranije zaustavljena alkoholna fermentacija i ostatak neprevrelog šećera utjecati na zadržavanje tvari arome i boje u vinu sorte Cabernet Sauvignon.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. GROŽĐE

Podrijetlo i botanička svojstva vinove loze

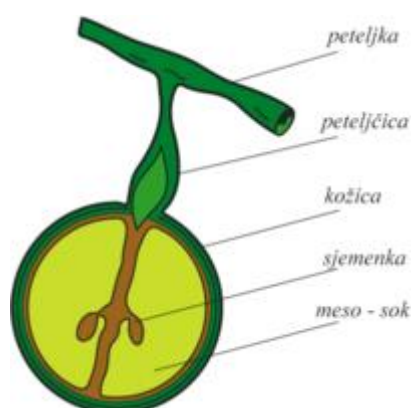
Vinova loza (*lat. Vitis vinifera*) jedna je od najranije kultiviranih biljnih vrsta. Prema međunarodnom kodeksu botaničke kulture, pripada porodici Ampelideae ili Vitaceae. Ovu porodicu karakteriziraju povijuše vitkog stabla, koje se svojim viticama učvršćuju, oslanjaju, penju ili pužu po zemlji. Porodicu Vitaceae čini oko 11 rodova i preko 600 vrsta. Cvjetovi koji mogu biti jednospolni i dvospolni, skupljeni su u cvat ili grozd. Najvažniji rod za vinogradarsku proizvodnju je rod *Vitis*, a njega čine dva podroda *Euvitis* i *Muscadinia*.

Rod *Euvitis* dijeli se na 40 azijskih, 30 američkih i 1 euroazijsku vrstu. Euroazijska vrsta (*Vitis vinifera*) djeli se na *Vitis vinifera* var. *Silvestris* (europska divlja loza) i *Vitis vinifera* var. *Sativa* (europska kultivirana loza). Sorte vinove loze za proizvodnju vina moraju pripadati vrsti *Vitis vinifera* ili križancima *Vitis vinifera* s drugim vrstama roda *Vitis* (N.N., 2003.). Od 16 američkih vrsta loze najvažnije podloge su: *Vitis riparia*, *Vitis rupestris*, *Vitis berlandieri*. Američka loza koristi se kao podloge za europske vinske loze. Važno je odabrati odgovarajuću podlogu prema vrsti tla i bujnosti, jer bujnost podloge, određuje bujnost i rodnost plemke.

Osim vinove loze roda *Vitis*, postoje i hibridi vinove loze, kao što su: američko- američki hibridi, europsko- američki i kompleksni hibridi. Dobiveni su namjerno ili su nastali slučajnim oprašivanjem, te su prilagodljiviji različitim klimatskim uvjetima i otporniji na bolesti, kao što su: filoksera, peronospora, pepelnica (Zorčić, 1996.; Prce, 2014.).

Mehanička i kemijska svojstva

Postotni udio pojedinih djelova grozda iznimno je bitan za količinu i kvalitetu. On je karakterističan za svaku pojedinu sortu vinove loze, ali ne ovisi samo o sorti, nego o nizu čimbenika, kao što su klimatski uvjeti, podneblje, zemljišni uvjeti (poglavito od gnojidbe i uporabe fitofarmaceutskih sredstava), te zdravstvenog stanja i dozrelosti.



Slika 1 Presjek bobice grožđa

Grozđ se sastoji od peteljkovine (peteljka + peteljčice) i bobica.

Peteljka predstavlja skelet grozda. Osnovni dio peteljke koji se više ili manje grana, završava s peteljčicama koje nose cvijet, a nakon oplodnje i bobicu.

Tip grozda ovisi o duljini peteljčica. Ako su duge, bobice su razmaknute jedna od druge, a grozdovi su rastresiti, a ako su peteljčice kratke, grozdovi su zbijeni. Rastresiti grozdovi su odlike stolnog grožđa, dok vinski kultivari imaju više zbijene grozdove. Peteljkovina služi za provođenje hranjiva do bobica i kao njihov nosač. Što je manje peteljkovine, to je veće iskorištenje grozda. Čini tek oko 2-5% ukupnog udjela, ali ima znatan utjecaj na kvalitetu mošta i vina u konačnici. U moštu s peteljkovinom, zabilježeno je povećanje polifenola (posebno tanina) čak do 25%. Peteljkovina je siromašna šećerom, ima nisku realnu kiselost (pH iznad 4), a na mineralni dio otpada 5-6% (kalij čini polovinu postotka).

Bobica, glavni dio grozda, većinskim dijelom sastoji se od mesa (75 - 85%), sjemenke (3 - 5%) i kožice (7 - 10%).

Kožica ima 6 do 10 slojeva. U kožici iza vode (60-80%), celuloze (3-4%), minerala (2-4%), ima najviše bojila (od 1 pa čak i do 15% izraženo kao ukupni polifenoli) i tvari mirisa (arome). Također ima i 3 - 7% kiselina, 1 - 3% šećera i 1,5 - 5,2% dušičnih tvari. Kemijski sastav kožice ima veliki utjecaj na kvalitetu vina, jer sadrži tvari arome i boje, te daje vinima karakterističan buke (okus).

Ovisno o sorti, bobica može biti besjemenka ili može sadržati od 1 - 4 sjemenke. Sjemenka se sastoji od masne jezgre koju okružuje drvena ljuska odjevena taninskom kutikulom. Kao i kod kože, tako i kod sjemenke, najveći udio otpadana na vodu 25 – 50% , 30 – 36% na šećere, 12 – 20% na ulje koje biljka sprema kao rezervnu hranu u klici. Tanina (oko 5%) i minerala (oko 3%) ima znatno manje, a tehnologa zanima upravo njihova nazočnost.

Meso bobice, zbog velikih stanica s fino celulozno pektinskom membranom, pretežno sačinjava tekuća faza ili mošt. Na membrane otpada 0,5% mase, a ostalo je čisti mošt. Gustoća ovisi o sadržaju šećera, te je najveća kod prezrelog grožđa. Meso bobice razlikuje se po sastavu i strukturi, pa tako imamo tri zone. Središnju koja je najbliža sjemenki, međuzonu (najbogatiju šećerima i vinskom kiselinom) , te perifernu. Po kemijskom sastavu sadrži 75 – 80 % vode, 10 - 27% šećera, 0,1 – 0,4% tanina, 0,5 – 1% kiselina, 0,02 – 0,15% dušične tvari, 0,3 – 0,65% celuloze i 0,3 – 1% mineralnih tvari (Zorčić, 1996.; Prce, 2014.; Ivanović, 2011.).

2.2. VINO

Definicija i podjela vina

Prema Zakonu o vinu, vino je poljoprivredni prehrambeni proizvod dobiven potpunim ili djelomičnim alkoholnim vrenjem masulja ili mošta, od svježeg i za preradu u vino pogodnog grožđa. Grožđem se u smislu ovoga Zakona podrazumjeva zdrav, zreo, prezreo, prosušen ili prirodno smrznut plod vinove loze priznatih kultivara namjenjen proizvodnji vina ili drugih proizvoda od grožđa i vina, a čiji sok sadrži minimalnu količinu šećera od 64°Oechsle.

Prema Zakonu o vinu, vina se dijele na:

Vina u užem smislu riječi:

- mirna vina
- pjenušava vina
- biser vina
- gazirana vina

Specijalna vina:

- desertna vina

- aromatizirana vina
- likerska vina

Prema boji vina se dijele na: bijela, ružičasta (rose, opolo) i crna (crvena)

Po sadržaju neprevrelog šećera vina se dijele na:

- mirna vina na – suha, polusuha, poluslatka i slatka
- pjenušava, biser i gazirana vina na – vrlo suha, suha, polusuha, poluslatka i slatka

Vina se razvrstavaju u kvalitetne kategorije ovisno o kakvoći prerađenoga grožđa, prirodi po hektaru, stupnju zrelosti grožđa, prerade i njege, randmanu, količini prirodnog alkohola i drugih sastojaka te organoleptičkim (senzornim) svojstvima.

Po kakvoći mirna se vina dijele na:

- 1) stolna vina
 - stolno vino bez oznake zemljopisnog podrijetla
 - stolno vino s kontroliranim zemljopisnim podrijetlom
- 2) kvalitetna vina
 - kvalitetno vino s kontroliranim zemljopisnim podrijetlom
- 3) vrhunska vina
 - vrhunsko vino s kontroliranih i ograničenih vinorodnih područja
 - vrhunsko vino s kontroliranih i ograničenih specifičnih vinorodnih područja
 - predikatna vina s kontroliranim zemljopisnim podrijetlom
 - kvalitetna i vrhunska vina koja su u podrumskim uvjetima čuvana pet ili više godina, od toga najmanje tri godine u boci, mogu nositi oznaku »arhivsko vino« (N.N., 2003.).

Sorte grožđa za proizvodnju vina

Najvažnije vinske sorte u Republici Hrvatskoj su:

Kontinentalna Hrvatska

BIJELA VINA

- Graševina bijela
- Rizling Rajnski bijeli
- Chardonnay bijeli
- Traminac mirisavi
- Traminac crveni
- Pinot bijeli
- Pinot sivi
- Sauvignon bijeli
- Plamenka bijela

CRNA VINA

- Frankovka crna
- Cabernet Sauvignon crni
- Portugizac crni
- Pinot crni
- Zweigelt
- Merlot crni

Primorska Hrvatska

BIJELA VINA

- Malvazija Istarska bijela
- Pošip bijeli
- Grk bijeli
- Maraština bijela
- Žilavka bijela
- Kujundžusa bijela
- Žlahtina bijela

CRNA VINA

- Plavac Mali
- Babić crni
- Merlot crni
- Teran crni
- Cabernet Sauvignon crni
- Plavina crna
- Crljenak

2.3. KEMIJSKI SASTAV VINA

ALKOHOLI

Vrlo je velik broj različitih alkohola u vinu, ali su dvije osnovne skupine: alifatski i aromatski. Alifatski se dijele na monovalentne i viševalentne. Najzastupljeniji monovalentni alkoholi u vinu su metanol i etanol. Dopušteni udio alkohola u vinu, kreće se od minimalno 8,5% vol., što je svojstveno za stolna vina, pa sve do maksimalnih 15% vol. kod vrhunskih i kvalitetnih vina.

Etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) predstavlja glavni proizvod alkoholne fermentacije i drugi je po količinskoj zastupljenosti, nakon vode. Nastaje fermentacijom prirodnih šećera, što znači da je njegov nastanak upravo proporcionalan količini prisutnog šećera u grožđu i moštu. Prema Pravilniku o proizvodnji vina najniži sadržaj stvarnog alkohola u vinu koje se stavlja u promet, ovisno od kakvoće i zone proizvodnje varira između 8,5 i 11,5 vol %.

Metanol (CH_3OH) za razliku od etanola, nije produkt fermentacije. U vinu se javlja kao nusprodukt, a nastaje hidrolizom pektinskih spojeva (polimeri galakturonske kiseline) posredstvom enzima pektinesteraze. Crna vina sadrže najviše metanola, čak 152 mg/L, rose vina imaju oko 91 mg/L, a najmanje imaju bijela vina 63mg/L. Razlog tome je duži kontakt tekuće faze s krutom (trop) za vrijeme maceracije masulja.

Metanol je toksičan za centralni živčani sustav, jer oksidacijom prelazi u formaldehid i mravlju kiselinu. Posebno opasan je metanolov aldehid koji uzrokuje sljepilo. Vina hibridnih sorti su toksična, jer sadrže znatno veću količinu metanola, od vina sorte Vitis vinifere. Iz tog razloga zabranjeno je proizvoditi vino od hibridnih sorti.

Viši alkoholi: propilni, butilni, amilni, heksilni, heptilni i njihovi izomeri javljaju se u minimalnim količinama u vinu, a daju im posebnu aromu. Posebno su važni njihovi esteri. Npr. Izoamil acetat daje ugodnu aromu banane mladim vinima. Viši alkoholi nastaju kao rezultat rada kvasaca bilo razgradnjom šećera ili aminokiselina u grožđu. Viši alkoholi u koncentraciji do 300 mg/L doprinose razvoju željene arome vina, dok koncentracije veće od 400 mg/L negativno utječu na aromatske karakteristike vina (Prce, 2014.).

Terpenski alkoholi imaju značajnu ulogu u formiranju arome vina (monovalentni alkohol) (Planinić, 1998.).

Najvažniji poliol je **glicerol**. Polioli su viševalentni alkoholi koji u svojoj strukturi sadrže 3C atoma i 3 hidroksilne skupine. Glicerol je treći najzastupljeniji spoj u vinima i najvažniji nusprodukt fermentacije. Proizvode ga kvasci alkoholnom fermentacijom. Koncentracija mu varira ovisno o sorti grožđa. Kod grožđa zahvaćenim plemenitom plijesni botritisom koncentracija glicerola može doseći i do 20 g/l (minimalni sadržaj 5 g/l).

Glicerol može poslužiti i kao hrana mikroflori u procesu proizvodnje nekih specijalnih vina kao npr. Sherry. Značajno utječe na okus dajući mu osjećaj punoće i blagosti, te pojačava slatkoću vina (Horvat, 2010.; Prce, 2014.).

U **aromatske alkohole** spadaju feniletanol, benzil alkohol i tirozol, a nastaju fermentacijom fenilalanina. Feniletanol je najzastupljeniji aromatski alkohol, koji ima miris meda. Iako je prisutan u malim količinama, jako je važan za bouquet vina (Planinić, 1998.).

UGLJIKOHIDRATI

Udio šećera u grožđu i moštu ovisi o sorti, okolinskim i vremenskim uvjetima. Visokokvalitetne sorte mogu imati od 22 do 28% šećera, dok se kod kvalitetnih sorti količina šećera kreće od 18 do 22%. Kvasci brže i lakše previru glukozu nego fruktozu do etanola, CO₂ i drugih spojeva (Vrdoljak, 2009.).

Ugljikohidrati nastaju fotosintezom u svim zelenim djelovima vinove loze, a ponajviše u listu i bobicama dok su zelene, tj. Dok sadrže klorofil.

Prema složenosti građe molekule, ugljikohidrate možemo podijeliti na:

- monosaharide (glukoza, fruktoza)
- disaharide (saharoza, maltoza, laktoza)
- polisaharide (škrob, amiloza, amilopektin, celuloza)

Od monosaharida u grožđu, moštu i vinu većinom se nalaze heksoze, D-glukoza i D-fruktoza. Na početku dozrijevanja najviše je glukoze, a kasnijim dozrijevanjem glukoza počinje opadati,

a fruktoza rasti i to je jedan od indikatora zrelosti. Kada se postigne tehnološka zrelost odnos fruktoze i glukoze je 1 : 1. Ukupna koncentracija glukoze i fruktoze u zreloom grožđu iznosi od 150 do 250 g/l, a može biti i veća u slučaju prezrelog ili prosušenog grožđa (Handbook of enology: the chemistry of wine, 2006).

Osim monosaharida u grožđu su zastupljene i druge vrste šećera, ali u znatno manjim količinama.

Pentoze se u grožđu nalaze u minimalnim količinama. Ne previru prilikom fermentacije i zastupljenije su u crnim, nego u bijelim vinima. Najpoznatije su ksiloza i arabinoza.

Od oligosaharida u grožđu imamo disaharide saharozu, maltozu i melibiozu, te trisaharid rafinozu. Saharoza je najvažniji oligosaharid, ostali su prisutni samo u tragovima.

Posebno treba spomenuti i visokomolekularne polisaharide - pentozani, pektini, škrob, glikogen, smole i sluzave tvari, jer većina otežava taloženje i bistrenje vina.

KISELINE

Prema Pravilniku o vinu, vino mora sadržavati najmanje 4,5 g/l, a najviše 14 g/l ukupnih kiselina izraženih kao vinska kiselina (N.N., 2003.).

Kiseline u vinu mogu biti prisutne kao normalni sastojci vina, ali i kao produkti kvarenja. Mogu biti organske (hlapljive i nehlapljive), anorganske kiseline i soli različitih kiselina.

Organske kiseline iz grožđa:

- vinska, jabučna, limunska, askorbinska, oksalna, glikolna, glukonska (grožđe zaraženo sivom plijesni)

Organske kiseline nastale alkoholnom fermentacijom:

- piruvična, mliječna, octena, sukcininska (antimikrobno djelovanje, pojačava arome), oksalna, fumarna (aseptičko antimikrobno djelovanje)

Nehlapive organske kiseline :

- jabučna, maslačna, vinska, jantarna, limunska, dioksimaleinska i pirogrožđana.

Udio kiseline u grožđu i moštu je od 5-15 g/L. Najveći udio je vinske i jabučne kiseline. Jabučna se nalazi u početku zrenja, zrenjem se smanjuje u procesu respiracije što ovisi o temperaturi. Tako se visoka kiselost bilježi u hladnijim područjima i godinama, dok je nasuprot tome u toplijim krajevima, te vrućim ljetima ukupna kiselost grožđa niska (Prce, 2014.).

Vinska kiselina je zastupljenija u moštu, nego li u vinu, jer vezivanjem s mineralima (K, Ca) prelazi u svoje soli – tartarate.

Mliječna kiselina javlja se kao sekundarni produkt alkoholne fermentacije. Javlja se u pokvarenom vinu uslijed djelovanja mliječno-kiselih bakterija.

Limunska se nalazi u vrlo malim količinama, a u vinu nastaje previranjem šećera djelovanjem plijesni ili postupkom dokiseljavanja (Vrdoljak, 2009.).

Hlapive organske kiseline – predstavljaju grupu masnih kiselina koje se nalaze u vinu, a koje pod određenim uvjetima mogu ispariti. Glavni predstavnik je octena kiselina. Nastaje kao sekundarni proizvod alkoholnog vrenja iz acetaldehida ili pak nakon alkoholnog vrenja tijekom čuvanja vina, oksidacijom etanola, a veće količine octene kiseline nastaju i kao rezultat nekog kvarenja, čiji su izazivači bakterije (octikavost, zavrela, vinski cvijet i dr.). Normalna koncentracija octene kiseline u vinu iznosi 0,3 – 0,6 g/l (Pichler, 2017.).

Anorganske kiseline - najvažnije sumporna i fosforna, a najčešće se u vinu i moštu pojavljuju u obliku kalcijevih i kalijevih soli.

ALDEHIDI I KETONI

Zbog svoje reaktivnosti, aldehidi i ketoni imaju značajnu ulogu za organoleptička svojstva vina, jer utječu na tvorbu karakteristične arome i bouquet-a.

Najznačajnija reakcija aldehida je vezivanje sa sumporastom kiselinom i njezinim solima, pri čemu nastaju lako topljive kiseline. U čistom obliku daju oštar miris, koji asocira na voće. Najintenzivniji miris daje heptanal.

Alifatski aldehidi daju ugodan voćni miris, iako ih nema puno. Najzastupljeniji alifatski alkohol je acetaldehid (90%).

Ketoni su znatno manje zastupljeni u moštu i vinu, od aldehida. Najzastupljeniji je aceton, zatim acetoin i diacetil. Većina ketona ima miris svježeg maslaca, što u količinama većim od 1mg/L može dati neugodnu užeglu aromu (Vrdoljak, 2009.).

ESTERI

Spojevi alkohola i kiselina nastali esterifikacijom su esteri. Udio estera se povećava tijekom fermentacije i odležavanja vina, što znači da ih najmanje ima u grožđu (uglavnom esteri masnih kiselina i alkohola). Ugodan miris i svježinu vinu, daju esteri octene kiseline: etil acetat, propil acetat, izopropil acetat, izobutil acetat i izoamil acetat. Esteri masnih kiselina koji imaju parni broj ugljikovih atoma (posebice C₆ i C₈), imaju ugodan voćni miris. U sastavu estera masnih kiselina najzastupljeniji je etil acetat, koji u većim koncentracijama crvenim vinima daje trpki i opori okus u ustima (Prce, 2014.; Matošević, 2017.; Planinić, 1998.).

TVARI AROME

Aroma vina naziva se *bouquet*. Ovisi o sorti vinove loze, zrelosti grožđa, načinu uzgoja, klimi, sastavu tla, primjeni agrotehničkih mjera, te o samoj tehnologiji proizvodnje vina. Poznate su mnogobrojne tvari koje pripadaju velikom broju kemijskih spojeva (lako hlapljivih): hlapive karboksilne kiseline, esteri, aldehidi, ketoni, alkoholi, eterična ulja, terpeni, više masne kiseline, te tvari slične smolama i voskovima. Tvari arome najzastupljenije su u pokožici, a manje zastupljene u mesu i sjemenkama. Aroma vina formira se tijekom zrenja, kemijskim, biokemijskim i mikrobiološkim procesima (Vrdoljak, 2009.).

Primarna aroma grožđa sadrži spojeve koji su nositelji sortne arome, a to su monoterpeni (geraniol, linalol, nerol, α -terpineol, citronelol, hotrineol). Ovi spojevi nositelji su voćnih i cvjetnih mirisa pojedinih sorti grožđa.

Sekundarna aroma razvija se tijekom obrade grožđa. Uz primarnu i sekundarnu aromu imamo još i aromu fermentacije kao produkt alkoholne fermentacije, te aromu starenja koja nastaje dozrijevanjem i starenjem vina i kao nusproizvod reakcije vina i drveta (Vrdoljak, 2009.; Prce, 2014.).

Tvari arome određuju se instrumentalnim metodama: tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC), plinskom kromatografijom (GC), analitičkim metodama i senzorskim ocjenjivanjem (Vrdoljak, 2009.).

ENZIMI

Enzimi imaju važnu ulogu pokretača kemijskih reakcija tijekom vinifikacije, taloženja i bistrenja vina tijekom odležavanja, starenja i njege vina, te u razvijanju sekundarnog bouquet-a. Različit je broj enzima, ovisno o zdravlju grožđa, i uglavnom provode reakcije oksidacije i hidrolize. Najvažniji enzimi su: saharaza (invertaza), tanaza, katalaza, pektaza.

Saharaza hidrolizira saharozu na glukozu i fruktozu. Tanaza katalizira tvorbu taninskih tvari, a u vino dospjeva iz plijesni trulog grožđa. Katalaza ubrzava oslobađanje kisika, vodikovog peroksida i ostalih peroksidnih spojeva i na taj način poništava toksično djelovanje ovih spojeva. Pektaza hidrolizira pektinske tvari na metanol i poligalakturonsku kiselinu, a značajna je za bistrenje vina (Vrdoljak, 2009.; Matošević, 2017.).

FENOLNI SPOJEVI

Fenolni spojevi osim što su odgovorni za razlike između bijelih i crnih vina, posebno okus i boju crnih, također su važni jer imaju baktericidna, antioksidativna i vitaminska svojstva, te štite konzumente od kardiovaskularnih bolesti. Ekstrakcijom iz grožđa prelaze u vino (Maletić, Karoglan Kontić, Pejić, 2008.).

Fenolni spojevi vina dijele se u dvije velike skupine:

- flavonoide (flavan-9-oli, prontoscijanidini, antocijani, flavonoli)
- neflavonoide (hidroksicimetna kiselina, hidroksi benzojeva, stilbeni)

Fenolne tvari lako oksidiraju već u samom dodiru sa zrakom. Oksidacija je intenzivnija enzimatskim djelovanjem polifenoloksidaze što dovodi do posmeđivanja vina. Najpoznatije su taninske i bojane tvari koje potječu iz čvrstih dijelova grožđa. Alkoholnom fermentacijom ekstrahiraju se iz masulja i prelaze u mošt i vino.

Taninske tvari uglavnom se nalaze u sjemenkama, peteljkovini i kožici i važne su sastojak vina za vrijeme vinifikacije i odležavanja. Kožica sadrži relativno visoke količine kompleksno vezanih tanina sa polisaharidima i proteinima što doprinosi zaokruženosti okusa vina. S druge strane sjemenke i peteljka sadrže visoke koncentracije polimeriziranih proantocijanidina i kondenziranih tanina koji izazivaju intenzivan osjećaj astringencije.

Zgušnjavanjem proteina, uvjetuju bistrenje i taloženje mošta, odnosno vina. Imaju antiseptičko djelovanje, jer štite vino od razvoja octenih bakterija i bolesti vina i djeluju fiksirajuće na tvari boje. Crna vina sadrže znatno veću količinu tanina, od bijelih (Pichler, 2016.; Prce, 2014.).

Bojane tvari nalaze se u kožici bobica. Klorofil iz nezrelog grožđa zrenjem prelazi u druge pigmente, ovisno o vrsti i sorti grožđa. Npr. bijele sorte dobiju žuti, zlatnožuti do jantarno žuti pigment, dok crne sorte poprime crveno plavi ili plavo sivi pigment. Boju bijelih sorti čine derivati flavona i karotenoidi. Flobafen je derivat koji prelazi iz peteljkovine u mošt, odnosno u vino, a nepoželjan je, jer vinu daje neugodan okus. Pigment crnih sorti grožđa najvećim dijelom čine antocijani (Vrdoljak, 2009.).

Glavni predstavnici derivata oksidnih kiselina, koji se javljaju u slobodnom i vezanom obliku, su: kafeinska, kumarinska i kininska kiselina. Njihovo prisustvo u moštu i vinu uzrokuje posmeđivanje i promjenu boje (Kelemović, 1999.; Skelin, 2009.).

MINERALNE TVARI (PEPEO)

Anorganske tvari koje zaostaju nakon isparavanja vode i potpunog spaljivanja suhe tvari vina, čine pepeo. Pepeo u vinu sastoji se od kalijevih, kalcijevih i magnezijevih soli sumporne, karbonatne i fosfatne kiseline, te od tragova bakra, fluora, mangana, željeza i drugih elemenata. Jače izražene sortne karakteristike grožđa, bolju aromu i bolji bouquet, imaju vina sa većom količinom mikroelemenata (Fe, Mn, Zn, Co, Ni) (Matošević, 2017.).

Mineralne tvari sastavni su dio zemljišta i na taj način većinski dio dospjeva u sirovinu, dok manji dio dolazi u vino prilikom prerade grožđa i njege vina (Zorčić, 2009.).

Crna vina sadrže veću količinu pepela, budući da se tijekom fermentacije masulja ekstrahira i veća količina mineralnih tvari iz čvrstih dijelova grozda. Na količinu pepela u vinu osim sorte i boje vinove loze, utječe kakvoća, zrelost grožđa, sastav tla, mikro i makroklimatski uvjet itd. (Vrdoljak, 2009.).

EKSTRAKT VINA

Klimatski uvjeti tijekom vegetacije utječu na sadržaj ekstrakta, tako u sunčanim i toplijim godinama ima više ekstrakta. Također vrsta tla, položaj vinograda, tehnologija prerade, duljina maceracije prije fermentacije, jačina prešanja, vrsta kvasca i mnogi drugi čimbenici utječu na količinu ekstrakta (Prce, 2014.).

Crna vina (25-30 g/L) sadrže više ekstrakta od bijelih (do 25 g/L). Razlog tomu je veći sadržaj tanina. Sukladno svemu tome, možemo zaključiti da onda i kvalitetne i vrhunske sorte sadrže veću količinu ekstrakta, od stolnih sorti.

Ukupni suhi ekstrakt u vinu čine sve organske i mineralne tvari koje nisu hlapive pod specifičnim fizikalnim uvjetima. Tvari koje čine ukupni suhi ekstrakt su ugljikohidrati, nehlapljive kiseline, viši alkoholi, tvari boje, polifenoli, mineralne tvari.

Ekstrakt u vinu može biti:

- ukupni suhi ekstrakt – čine ga svi sastojci vina koji nisu hlapivi pod specifičnim fizikalnim uvjetima
- reducirajući ekstrakt - dobije se kada se od ukupnog suhog ekstrakta oduzme sadržaj ukupnih šećera umanjen za 1 g ako je sadržaj šećera preko 1 g/L.
- nereducirajući ekstrakt bez šećera - dobije se kada se od ukupnog suhog ekstrakta oduzme sadržaj ukupnih šećera u vinu

DUŠIČNE TVARI

Dušični spojevi u vino prelaze iz grožđa. Količina u prvom redu ovisi o bogatstvu tla dušičnim spojevima, zatim o zdravstvenom stanju grožđa (što je grožđe zdravije, sadrži više dušičnih spojeva), te o načinu prešanja (samotok sadrži manje dušičnih tvari od prešavine). Dušične tvari su po prirodi pozitivno nabijeni koloidi, stoga utječu na stabilnost, jer uzrokuju zamućenje. Dodatkom negativnih bistrila, poput tanina, talože se na dno (Zorčić, 1996.).

Također mogu utjecati i na aromu, boju i postojanost vina, a k tome su i dobar izvor dušika bakterijama uzročnicima kvarenja vina (Vrdoljak, 2009).

KOLOIDI VINA

Koloidi imaju vrlo nepovoljan učinak na organoleptička svojstva vina, jer uzrokuju povećanje viskoznosti, zamućenja, opalesciranje (poluprovodnost) i pojavu kataforeze (čestice posjeduju istovrstan naboj). Veličina čestica im je između 1 – 100 μm , a po prirodi tvari su proteini i pektinske tvari.

Koloidne tvari dijelimo na liofilne i liofobne. Liofilni koloidi povećavaju kiselost vinima zbog sposobnosti vezivanja vode, a liofobni su jako osjetljivi na elektrolite, pa pri malim promjenama pH dolazi do njihove koagulacije. Liofobni koloidi uglavnom sadrže kompleksne spojeve bakra, željeza i fosfora (Matošević, 2017.).

PROTEINI

Proteini, makromolekule građene od aminokiselina, su vrlo nestabilni spojevi i u vinu se ponašaju kao koloidi s pozitivnim električnim nabojem.

U vinu potječu od grožđa i kvasaca (odumiranjem kvasaca, prelaze u vino).

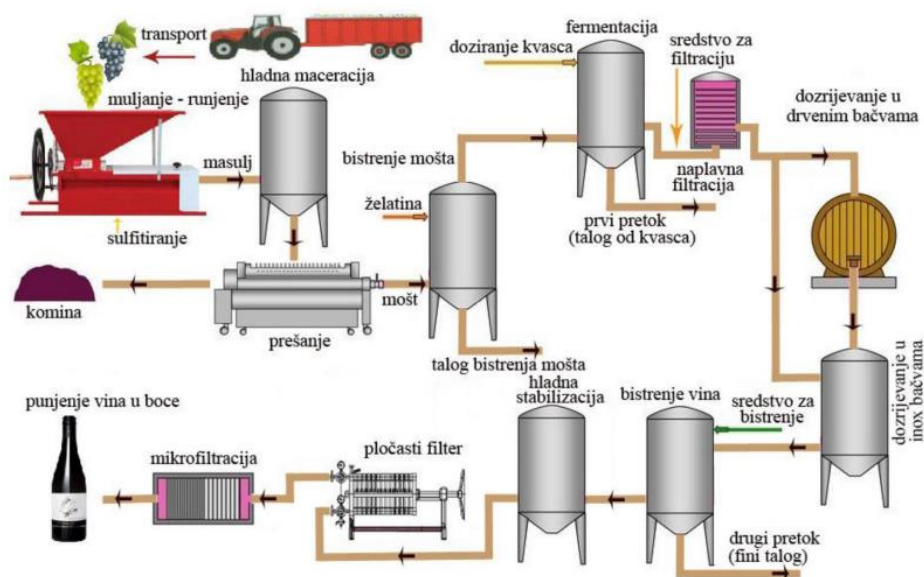
U bijelim vinima je veća količina koaguliranih proteina koji se sporije talože, nego koagulirani proteini u crnim vinima. Naime, crna vina sadrže veću količinu tanina s kojima se koagulirani proteini lakše i brže istalože (Matošević, 2017.).

Dodatkom određenih bistrila poput npr. bentonita, izbistravanje vina se može ubrzati.

2.4. PROIZVODNJA VINA

Enologija je znanstvena disciplina koja se bavi tehnologijom proizvodnje vina. Ova disciplina proučava kemijski sastav vina, proizvodnju i čuvanje kakvoće vina s ciljem da se poboljša iskorištenje sirovine i da se ustanove načini koji omogućuju da se dobije vino konstantne kakvoće (Prce, 2014.).

Proizvodnja crnih vina



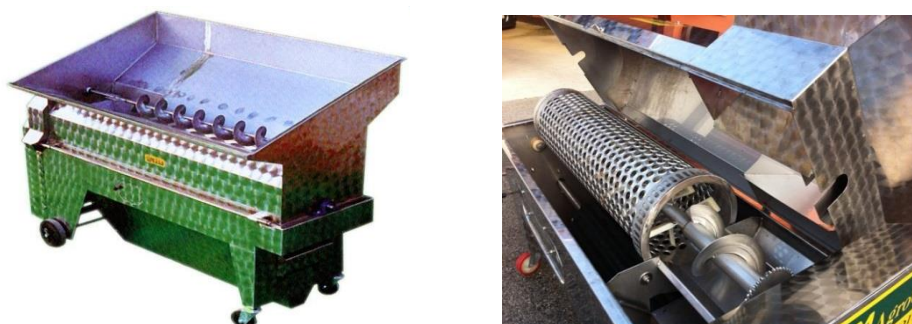
Slika 2 vinifikacija crnih vina (Web 6)

Kada grožđe dostigne tehnološku zrelost, kreće berba, tj. sadržaj šećera u bobici raste, a kiseline opadaju. Nakon berbe, trebalo bi se u što kraćem roku pristupiti daljnoj preradi.

Faze vinifikacije crnih vina:

- muljanje – runjanje i punjenje posuda
- maceracija i alkoholna fermentacija
- odvajanje mošta od taloga ocjeđivanjem i prešanjem
- završna alkoholna i eventualno malolaktična fermentacija

Muljanje je prvi postupak u preradi grožđa. To je odvajanje bobica od peteljkovine, a njihovo razdvajanje nazivamo ruljanje. Ove operacije treba što hitnije provoditi. Dobije se masulj – zgnječeno grožđe koje sadrži krutu (sjemenke, meso i pokožica) i tekuću fazu (groždani sok). Usljed povišenih temperatura u tijeku vrenja i stvaranja alkohola dolazi do raspadanja stanica kože iz kojih onda tvari boje prelaze u mošt. Zajedno s tvarima boje otapaju se i drugi sastojci kože (mineralne tvari, pektini, tanini, dušične tvari dr) (Vrdoljak, 2009.).



Slika 3 muljača – runjača (Web 8 i 9)

Nakon muljanja, u proizvodnji crnih vina, neophodno je odstranjivanje peteljke. Ukoliko se peteljke ne odstrane, u procesu fermentacije došlo bi do ekstrahiranja velikih količina tanina. Danas se u malim podrumima najviše koriste, jednostavne, manje muljače-runjače, na ručni ili elektromotorni pogon, te se tako na jednostavan način odstranjuju nepotrebne peteljke.

Masulj se nakon toga sumpori. Sumpor se dodaje da bi se zaštitile tvari boje od oksidacije, reducirao rad i razmnožavanje nepoželjnih divljih bakterija i kvasaca. U suvremenoj tehnologiji kvalitetnih crnih vina, masulju se dodaju pektolitički enzimi. Pektolitički enzimi razgrađuju pektin u kožici bobica u kojima se nalaze bojane tvari, te se na taj način bojane tvari u potpunosti ekstrahiraju. Nakon sumpora, masulju se dodaje selekcionirani kvasac, uslijed čega slijedi fermentacija (Vrdoljak, 2009.; Udruga vinogradara, vinara i voćara Općine Kaptol, 2010.; Prce, 2014.).

Fermentaciju provode kvasci i ona je ujedno i najvažniji proces u vinarstvu. Alkoholnu fermentaciju mogu provoditi nativni ili prirodni kvasci (spontana fermentacija), koji se pojavljuju na vinovoj lozi na početku zrenja ili ju provode selekcionirani vinski kvasci (dobiveni umjetnim putem). Alkoholna fermentacija je prirodno zaštićen proces, jer kvasci stvaraju nepovoljne (anaerobne) uvjete za rast i razmnožavanje nepoželjnih mikroorganizama. U suvremenom vinarstvu ne dopušta se spontana fermentacija (Vrdoljak, 2009.; Prce, 2014.).

Maceracija je potpuno ekstrahiranje pojedinih sastojaka iz čvrstih dijelova grožđa (antocijani, tvari arome, tanini, vitamini..). Poznato je da se tijekom maceracije intenzitet obojenja

povećava prvih 8-10 dana, a nakon toga opada. Klasična maceracija odvija se istovremeno s alkoholnom fermentacijom, čime se pospješuje razgradnja stanične stijenke pokožice i dolazi do boljeg izdvajanja boje (Vrdoljak, 2009.). Osim klasične maceracije postoje još: karbonska, maceracija zagrijavanjem, flash ekspanzija i delastage. Odabir optimalne duljine maceracije ovisi o: tipu vina koje se želi proizvesti, karakteristikama (intenzitet taničnosti i harmonija strukture nisu kompatibilni), kvaliteti primarne sirovine i uvjetima tijekom maceracije (fermentacije). Samo se u zatvorenim posudama može macerirati dulje vrijeme. U otvorenoj je posudi mošt u kontaktu sa zrakom, lakše fermentira, ali su rizici kvarenja (bakterije) veći i velik je gubitak alkohola (Pichler, 2016.).

Veliki dio masulja ostavlja se da bez ikakvog tlaka, otječe slobodnim padom i na taj način dobivamo najkvalitetniju frakciju, a zove se samotok. Za odvajanje preostalog soka koriste se preše pod tlakom. Proces treba odvajati pažljivo, ne prijeći zadani tlak i što brže da ne bi došlo do oksidacije mošta.

Alkoholna fermentacija mošta provodi se u dvije odvojene faze:

- glavno (burno) vrenje
- naknadno (tiho) vrenje

Glavno vrenje karakterizira toplo vrenje, tj. vrenje na temperaturama od 15 – 18 °C (max 20°C) u trajanju od 5 – 10 dana i hladno vrenje na 10 – 15 °C u trajanju od 7-14 dana.

Naknadno (tiho) vrenje odvija se na minimalnoj temperaturi od 15°C u trajanju od 3 – 6 tjedana. Suvremena tehnologija preporučava hladno vrenje, jer je na visokim temperaturama vrenje burno i CO₂ naglo izlazi i odnosi aromatične tvari i alkohol. Prestanak vrenja označava prijelaz mošta u mlado vino (Prce, 2014.).

Nakon vrenja vina su bez razvijenog karakterističnog sortnog okusa i mirisa, te su izrazito mutna. Malolaktičkom fermentacijom i taloženjem tartarata, tijekom dozrijevanja, dolazi do smanjenja kiselosti vina. Malolaktičkom fermentacijom iz jabučne (opor okus), nastaje slabija mliječna. Ujedno se smanjuje i ukupan udio kiselina. Malolaktička fermentacija se naziva i drugo vrenje, jer se razgradnjom jabučne kiseline, oslobađa CO₂, koji ima bitnu ulogu u formiranju kakvoće vina. Vino je manje kiselo, harmonično i mekše (Olvitz, 2008.).

Tek odležavanjem u mladom vinu dolazi do razvoja arome, okusa i mirisa. Primarnu aromu čini aroma grožđa, sekundarnu aroma vrenja, tercijarnu aromu čine arome i mirisi dobiveni

pretokom i odležavanjem – razvija se bouquet vina. Kisik ima osobit utjecaj na sazrijevanje vina (Prce, 2014.).

Postupci stabilizacije vina su:

- bistrenje i taloženje mošta, bistrenje vina, sumporenje mošta i vina, hladna stabilizacija vina, pretakanje i filtracija (Muštovic, 1985.).

Za razliku od spontanog bistrenja (koji je normalan proces u vinu nakon alkoholne fermentacije), primjena bistrenja vina, kao posebnog tretiranja, se sastoji u unošenju određenih sredstava u vino sa kojima se putem kemijskih i fizičko – kemijskih reakcija iz njega odstranjuje nestabilni dio sastojaka. Kod većine sredstava proces bistrenja se odigrava na principu elektrostatičkih odnosa između sredstava koja se unose u vino i sastojaka koji se u njemu nalaze. Na efikasnost bistrenja utječe aciditet odnosno pH vina, temperatura, priprema i način unošenja sredstva u vino, i dr.

Postoje dvije velike grupe sredstava za bistrenje:

- organska : želatina i tanin
- mineralna: bentonit (Pichler, 2016.).

2.5. ODREĐIVANJE SASTOJAKA AROME PLINSKOM KROMATOGRAFIJOM

Plinska kromatografija

Plinska kromatografija koristi se za odvajanje, kvantitativnu analizu, izolaciju komponenata smjese, za utvrđivanje čistoće tvari, te identifikaciju. Kromatografska analiza ima dvije faze: mobilnu i stacionarnu. Mobilna faza nosi sastojke uzorka kroz stacionarnu fazu i u plinskom je stanju, dok je stacionarna faza kruti adsorbens ili tekućina nanosena na kruti nosač. Odjeljivanje faza temelji se na njihovim različitim brzinama.

S obzirom na nepokretnu fazu, ovu metodu dijelimo na:

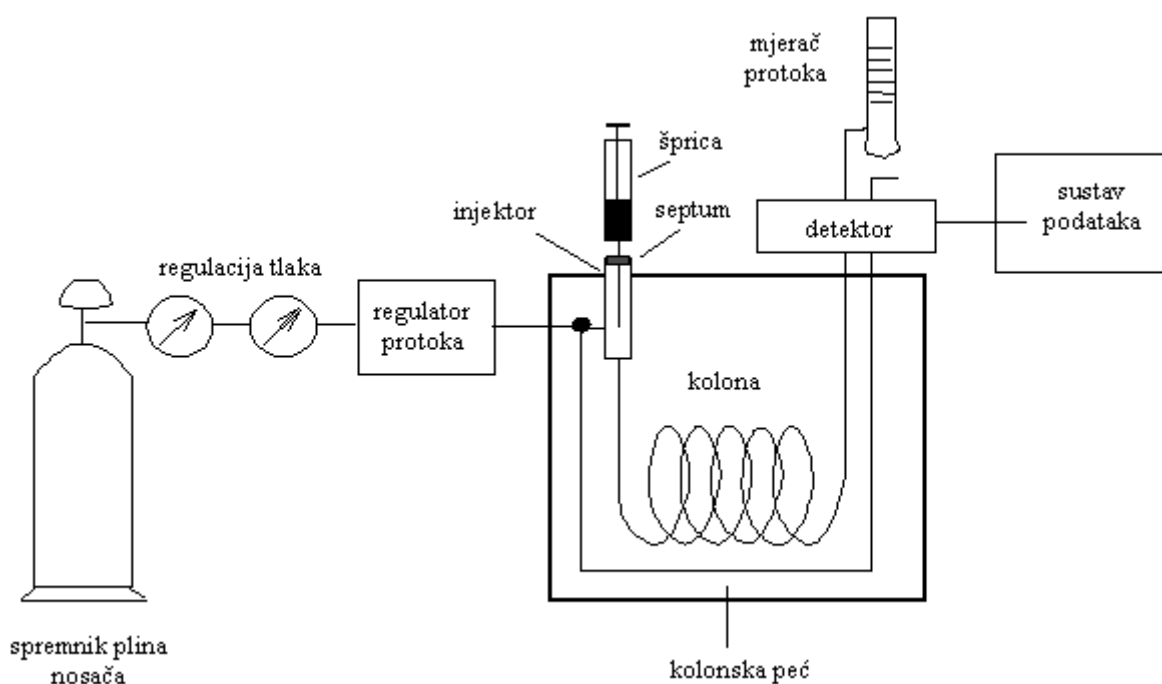
- *plinsko adsorpcijsku* (stacionarna faza je adsorbens- silikagel, aluminijev oksid, diatomejske zemlje – koji na sebe veže komponente smjese)
- *plinsko - razdjelnu kromatografiju* (stacionarna faza je tekućina nanosena na kruti nosač - silikonska ulja, tekući ugljikovodici velike molekulske mase, esteri i alkoholi visokog vrelišta) (Web 12).

Analit je otopljen na pokretnoj fazi i kreće se uzduž nepokretne faze, koja može biti u koloni ili na ravnoj plohi (Primorac, 2007.).

Injektira se kao tekućina koja zbog visoke temperature u kromatografu prelazi u plinovito stanje. Temperatura ulaza instrumenta postavlja se na 50°C višu temperaturu od temperature vrelišta najslabije hlapljive komponente iz analizirane smjese (Web 13).

Plin nositelj nema interakcija s analiziranim komponentama već služi isključivo kao transportno sredstvo (Primorac, 2007.).

Ispire iz kolone pojedine frakcije, pa su sastojci na taj način pomiješani samo sa plinom nositeljem, stoga je olakšano kvalitativno i kvantitativno određivanje komponenata. Osnovni dijelovi plinskog kromatografa su: izvor plina nositelja, regulator tlaka i protoka, injektor, kromatografska kolona, detektor i pisač (Vrdoljak, 2009.).



Slika 4 Shematski prikaz plinske kromatografije

Plin nositelj

Plin nositelj mora biti inertan, kako ne bi došlo do reakcije s uzorkom. Kao plinovi upotrebljavaju se:

- helij – uz detektore s toplinskom vodljivošću
- dušik – uz detektore s plamenom ionizacijom (jeftiniji od He)
- vodik – bolje odjeljivanje (osobito uz kapilarne stupce) zbog niske viskoznosti prikladan za dugačke stupce – **opasnost od eksplozije!**

Izbor plina ovisi o: vrsti primijenjenog detektora, sigurnosnim mjerama, brzini i efikasnosti, mogućnosti nabave, te o cijeni.

Plin mora biti suh i pročišćen od nečistoća, te mora imati odgovarajuću gustoću kako bi se smanjila difuzija u plinskoj fazi (Živčić, 2013.; Vrdoljak, 2009.).

Uređaj za unošenje uzorka (injektor)

Uređaj za unošenje uzorka (injektor) predstavlja ulazni dio kolone. U injektor se uzorci obično unose pomoću injekcijske štrcaljke, kroz gumenu ili silikonsku membranu u zagrijani dio uređaja koji je smješten na vrhu kolone. Temperatura injektora mora biti dovoljno visoka da uzorak potpuno i brzo ispari (Primorac, 2007.).

Kromatografska kolona

Kolona je najvažniji dio kromatografa. Kolona može biti staklena, metalna ili plastična, savijena tako da stane u termostatirani dio kromatografa. Osnovni zahtjev kod njenog odabira dobra selektivnost. Selektivnost kolone ovisi o izboru krutog nosača, punjenju kolone te vrsti i količini selektivne tekućine.

Kolone se mogu prema načinu izvedbe podijeliti na:

- preparativne - promjer od 10 mm i više, a duljinu do nekoliko metara
- analitičke - punjene (promjer 2 – 5 mm),
 - mikropunjene (promjer 1 mm)
 - kapilarne (promjer 0.1 – 0.5 mm).

Kako bi razdvajanje uzorka plinskom kromatografijom bili dobro, selektivna tekućina mora biti: nehlapiva, termički stabiln, kemijski inertna prema sastojcima uzorka koji se analiziraju, te stabilna i dobro otapalo za sastojke uzorka (Matošević, 2017.; Web 12).

Detektori

Detektor kontrolira plin nositelj pri napuštanju kolone i generira signal koji odgovara promjenama njegovog sastava uzrokovanog eluiranjem komponenata.

Detektor mora imati brz odaziv, visoku osjetljivost, linearni odaziv, dobru stabilnost, jednostavno rukovanje i uniformirani odziv prema širokom spektru kemijskih vrsta. (Web 13)

Detektori, s obzirom na selektivnost, u plinskoj kromatografiji mogu biti:

- univerzalni – daju odziv za svaki sastojak u eluatu osim za čistu mobilnu fazu
- selektivni – daju odziv samo na određene grupe komponenata u eluatu (Primorac, 2007.).

Budući da osjetljivost detektora na toplinu nije visoka, koriste se plameno ionizacijski detektori. To su detektori visoke osjetljivosti i rade na principu električne vodljivosti plina, koja je proporcionalna koncentraciji nabijenih čestica u plinu.

Spektrofotometrijska masa

Spektrometri su instrumenti koji daju podatke o molekularnoj strukturi. Razlikuju se: infracrveni spektar (IC), spektar nuklearno – magnetske rezonancije (NMR), ultraljubičasti spektar (UV), spektar elektron – spinske rezonancije (ESR) i spektar masa.

Spektrometar masa je uređaj u kojem se molekule bombardiraju snopom elektrona bogatih energijom. Dolazi do ionizacije i cijepanja molekula u mnogo fragmenata, od kojih su neki pozitivno nabijeni ioni. Svaka vrsta iona ima određenu masu i naboj, odnosno određeni odnos m/e što je karakteristična veličina za tu vrstu iona. Niz iona se analizira na način da se dobije signal za svaku vrijednost m/e koja je prisutna. Intenzitet svakog signala prikazuje relativnu količinu iona koja daje taj signal. Osnovni signal je najviši signal ili maksimum (engl.

peak). Intenzitet osnovnog signala označava se sa 100, te se obzirom na njegov intenzitet izražava intenzitet ostalih signala. Spektar masa je dijagram koji pokazuje relativne intenzitete signala za različite vrijednosti m/e . Za dokazivanje identičnosti dvaju spojeva i kao pomoć pri određivanju strukture novog spoja može poslužiti spektar masa. Dva spoja su identična ako su im jednake fizikalne konstante (talište, vrelište, gustoća).

U kombinaciji plinskog kromatografa i masenog spektrometra, plinskom kromatografijom se razdvajaju sastojci, a maseni spektrometar služi kao detektor (Matošević, 2017.).

SPME analiza

Dugotrajna priprema uzoraka i upotreba organskih otapala, analitičke tehnike poput ekstrakcije tekuće – tekuće ili ekstrakcije na čvrstoj fazi nisu bile zadovoljavajuće i učinkovite, te su Zhang i Pawliszyn 1993. godine razvili novu tehniku pripreme uzoraka poznatu kao mikroekstrakcija na čvrstoj fazi ili tzv. SPME (engl. solid phase microextraction) tehnika. Ova tehnika se sve više primjenjuje za pripremu čvrstih i tekućih uzoraka poput vina, piva, voća, ulja i meda.

SPME se sastoji od dvije odvojene faze:

- apsorpcije - prilikom koje dolazi do zaostajanja analita na stacionarnoj fazi
- desorpcije

Za uspješan postupak obje faze moraju biti optimizirane. Na desorpciju utječu temperatura i vrijeme desorpcije, dok na ekstrakciju utječe tip uzorka, vrijeme ekstrakcije, ionska jakost, pH uzorka, temperatura ekstrakcije i mućkanje uzorka.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak rada je ispitati da li ranije zaustavljena alkoholna fermentacija i ostatak neprevrelog šećera utječu na zadržavanje tvari arome i boje u vinu sorte Cabernet Sauvignon. U tu svrhu će se u navedenom vinu odrediti sadržaj tvari boje, polifenoli, flavonoidi, antocijani, degradacija antocijana i antioksidacijska aktivnost upotrebom spektrofotometra. Određivanje kvantitativnog udjela aromatičnih sastojaka provest će se primjenom instrumentalne plinske kromatografije i mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME). U radu će biti korišten plinski kromatograf tvrtke Agilent 5890 B s maseno-selektivnim detektorom Agilent 5971A. Dobiveni rezultati usporedit će se s rezultatima uzorka bez ranije zaustavljene alkoholne fermentacije.

3.2. MATERIJALI I METODE

Vino sorte Cabernet Sauvignon

Cabernet Sauvignon jedna je od najpoznatijih vinskih sorti crnog grožđa nastala križanjem Cabernet Franca i Sauvignona bijelog. U naša vinogorja (ponajprije u Istri, i to na područje Poreštine i Pazinštine) stigao je 1880. godine iz njezine domovine Francuske (Bordeaux).

Bobica Cabernet Sauvignona je mala, tamno crna i debele pokožice, a u idealnim uvjetima dozrijevanja vrlo je aromatična. Sadržaj tanina je jako visok, a pulpa je bogata šećerom i kiselinama što Cabernet Sauvignon čini jako zahvalnom sortom za proizvodnju različitih tipova vina.

Prinosi grožđa nisu baš visoki, ali ako govorimo o proizvodnji grožđa najviše kvalitete prinosi su i više nego dobri u usporedbi sa naprimjer sortom Pinot Crni. Cabernet Sauvignon se podjednako uspješno uzgaja na dubokim kao i na plitkim suhim tlima. Sorta je iznimno zahvalna i dosta otporna na gljivične bolesti. U Hrvatskoj pravilnik preporuča uzgoj u podregijama Podunavlje, Slavonija, Moslavina, Prigorje-Bilogora te u svim podregijama regije Primorske hrvatske. Najbolje rezultate Cabernet Sauvignon daje na siromašnim, dubokim, šljunkovitim terenima na područjima toplije klime.

Karakteristika vina:

Vina Cabernet Sauvignona su intenzivne rubin-crvene boje s prijelazom na ljubičastu. U mirisu se mogu razviti arome širokog spektra, a sve ovisi o tretiranju, starosti, položaju. U mladim vinima najčešće pronalazimo note crnog bobičastog voća (kupine, crni ribizl, borovnice...), zatim višnje i trešnje dok se u zrelim vinima razvijaju arome duhana, kože i zemlje. Još jedna odlika Cabernet Sauvignona svakako je potencijal starenja i odležavanja zbog svoje taninske strukture pa je tako često slučaj da vina odleže nekoliko godina prije plasiranja na tržište. Također vrlo često se koristi i za različite kupaže kako bi pridonjeo robusnosti i kompleksnosti. Prija uz tamna mesa i jača jela od divljači, gljiva, canellone, lasagne, aromatične sireve i poslužuje se ohlađen na 16°C (Web 15).

Tablica 1 Karakteristike analiziranog vina

Vinogradarska regija:	Istočna Kontinentalna Hrvatska
Podregija:	Slavonija
Vinogorje:	Zmajevac
Sorta:	Cabernet Sauvignon
Godina berbe:	2016.

Kemijska analiza vina

Kemijska analiza provedena je na uzorku vina kojem je izvršena kompletna fermentacija i na vinu kojem je ranije prekinuta fermentacija.

Određivanje SO₂

Slobodni SO₂ određivan je titracijskom metodom pomoću otopine joda, uz škrob kao

3. Eksperimentalni dio

indikator. Analiza je provedena na sobnoj temperaturi. Dodavanjem sumporne kiseline, SO_2 se oslobađa iz sulfita, a zatim se oksidira djelovanjem joda koji se reducira. Na osnovu utroška joda za titraciju, izračuna se količina slobodnog SO_2 .

Ukupni SO_2 određivan je istim postupkom, ali je vino prethodno tretirano s NaOH čime se stvara alkalna sredina u kojoj se oslobađa SO_2 (vezan na šećere, aldehide i polifenolne tvari).

Titracija se vrši do pojave konstante plave boje u oba slučaja, te je i račun jednak.

$$\text{Račun : } \text{SO}_2 \text{ (mg/ dm}^3\text{)} = V \text{ (0,02 N I}_2\text{) (cm}^3\text{)} \cdot 12,8$$

Određivanje reducirajućih šećera

Filtrat: uzorak vina (25 g), CaCO_3 (slabo kisela reakcija), reagens I (vodena otopina kalijferocijanida) i reagens II (vodena otopina cinkovog acetata), destilirana voda.

Rad sa uzorkom: U tikvicu se odmjeri Luffova otopina i doda filtrat, te destilirana voda.

Sadržaj se zagrijava tako da provri i umjereno vrenje se nastavi 10 minuta. Potom se sadržaj naglo hladi i dodaje se otopina KI, te H_2SO_4 i otopina KCNS. Istaloženi jod se titrira otopinom Natisulfata, uz dodatak škroba kao indikatora, dok se ne izgubi plava boja (usporedba sa slijepom probom).

$$\text{Račun: \% red.šeć.} = (a \cdot 100) / \text{mg uzorka}$$

a – šećer (mg) izračunat dobivenim rezultatima prema tablici po Schoorl-Luff-u.

Određivanje ukupnih kiselina

Princip ove metode zasniva se na neutralizaciji svih kiselina (nakon uklanjanja CO_2) s NaOH, uz indikator do promjene boje. Ukupne kiseline izražene su kao vinska kiselina.

$$\text{Račun: vinska kiselina (g/dm}^3\text{)} = V \text{ (0,25 N NaOH) (cm}^3\text{)} \cdot 0,75$$

Određivanje ukupnog ekstrakta i alkohola

Provedena je destilacija uzorka vina (50 mL). Suhi ostatak ili ekstrakt je cjelokupna količina onih tvari koje zagrijavanjem na 100°C (destilacija) ne prijeđu u destilat. Mjeri se uz pomoć

piknometara. Prvo se izračuna relativna gustoća ekstrakta.

$$\text{Račun: } \gamma (\text{ekstrakta}) = \frac{Q_1 - Q}{Q_2 - Q} * K$$

γ – relativna gustoća ekstrakta

Q – masa praznog piknometra

Q1 – masa piknometra sa ekstraktom

Q2 – masa piknometra sa destiliranom vodom

K – faktor korekcije = 0,99823

Iz izračunate gustoće ekstrakta iz Tablice za preračunavanje očitava se količina ekstrakta

izražena u g/ L. Ekstrakt bez šećera izračunat je matematički:

$$\text{Ekstrakt bez šećera (g/ L) = Ekstrakt (g/ L) – Količina šećera (g/ L)}$$

Količina alkohola mjeri se preko destilata koji je dobiven ovom istom destilacijom. Formula je jednaka, a udio alkohola (vol %) očitava se iz Tablice za preračunavanje g alkohola u litri na volumne postotke.

$$\text{Račun: } \gamma (\text{destilata}) = \frac{Q_1 - Q}{Q_2 - Q} * K$$

Određivanje pepela

Određivan je ostatak koji je ostao nakon potpunog spaljivanja uzorka vina. U porculanskoj zdjelici na vodenoj kupelji (120 °C) isparavan je uzorak vina (25 mL), zatim sušen u sušioniku na 120 °C 1 sat i potom spaljivan u mufolnoj peći na temperaturi od 200 - 500 °C do potpunog spaljivanja.

$$\text{Račun: } m \text{ pepela (g/ 25 cm}^3 \text{ vina) = } m_2 - m_1$$

$$m \text{ pepela (g / L) = } m \text{ pepela (g / 25 cm}^3 \text{ vina) } \cdot 40$$

m1 - masa prazne porculanske zdjelice

m2 - masa porculanske zdjelice sa pepelom

Određivanje ukupnih fenolnih tvari

Određivanje ukupnih fenola provedeno je po metodi Singletona i Rossija. Metoda se bazira na oksidaciji fenola s Folin - Ciocalten - ovim reagensom koji sadrži natrijev fosfomolibdat i natrijev volframat. Intenzitet pravog obojenja izražen je mjerenjem apsorbancije kod 765 nm na spektrofotometru. Rezultati su izraženi u (g galne kiseline/ L vina), a uspoređeni su sa standardnom krivuljom polifenola.

Određivanje sadržaja polifenolnih spojeva

Koncentracija ukupnih fenola se određuje Folin-Ciocalteu metodom. Folin-Ciocalteu metoda temelji na kolornoj reakciji fenola s Folin-Ciocalteu reagensom, te mjerenjem nastalog intenziteta obojenja (apsorbance) pri valnoj duljini od 765 nm (Ough, & Amerine, 1988). Folin-Ciocalteu reagens je smjesa fosfowolframove i fosfomolibden kiseline a pri oksidaciji fenolnih tvari ove kiseline se reduciraju u wolframov oksid i molibdenov oksid koji su plavo obojeni. Folin-Ciocalteu reagens (1:10) pripremljen je tako da je otpipetirano 3,3 ml Folin-Ciocalteu reagensa u odmjernu tikvicu od 100 ml i do oznake dopunjeno s destiliranom vodom. Otpipetirano je 0,2 ml uzorka soka određenog razrijeđenja, te dodano 1,8 ml destilirane vode, 10 ml Folin-Ciocalteu reagensa te nakon stajanja 30 sekundi do 8 minuta dodano 8 ml 7,5 % Na_2CO_3 (ukupni volumen mora biti 20 ml). Za slijepu probu otpipetira se 2 ml destilirane vode u epruvetu, te doda 10 ml Folin-Ciocalteu reagensa i 8 ml 7,5 % Na_2CO_3 . Nakon stajanja u mračnom prostoru 2-20 sati, pri čemu dolazi do razvijanja boje, mjeri se

apsorbanca na spektrofotometru pri valnoj duljini od 765 nm. Sadržaj polifenolnih spojeva je interpoliran pomoću kalibracijske krivulje galne kiseline i izražen u g galne kiseline/L uzorka.

Određivanje ukupnih flavonoida

Određivanje ukupnih flavonoida učinjeno je prema metodi Kim, Jeong i Lee (2003.) s modifikacijom (Blasa i sur., 2005.). Za kalibraciju su uzete različite koncentracije kvercetina (5-114 µg/mL), a linearnost je 0,9953 (R^2). Postupak određivanja vršio se tako što je 1 ml otopine vina (1 mg/mL) pomiješan s 0,3 ml NaNO₂ (5%), a nakon 5 min je dodano 0,3 ml AlCl₃ (10%). Uzorci su pomiješani te su nakon 6 minuta neutralizirani s 2 ml otopine NaOH (1M). Absorbanca je izmjerena za sve uzorke pri 510 nm, a kvantifikacija izvedena koristeći kalibracijsku krivulju. Rezultati su izraženi u mg ekvivalenata kvercetina (QE) / 100 g vina, kao srednja vrijednost triju ponavljanja.

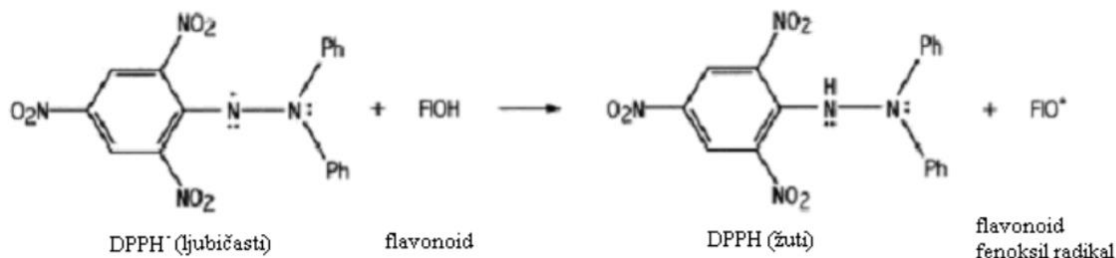
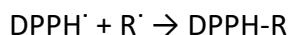
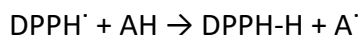
Određivanje antioksidativne aktivnosti

Glavni mehanizam djelovanja antioksidansa u hrani je uklanjanje radikala. Voće i povrće, kao jedna od važnijih komponenti uravnotežene prehrane, glavni su izvor antioksidanasa potrebnih ljudskom organizmu.

Nekoliko metoda je razvijeno za određivanje antioksidativne aktivnosti na osnovi uklanjanja sintetskih radikala u polarnom organskom otapalu (npr. metanolu) pri sobnoj temperaturi. One koje su najčešće, koriste 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) i 2, 2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-sulfonska kiselina) (ABTS) radikale.

Antioksidativna aktivnost je određivana primjenom 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) reagensa. Kod DPPH testa, uklanjanje DPPH radikala je praćeno smanjenjem absorbancije na 515 nm, do koje dolazi zbog smanjenja količine antioksidansa (AH) ili reakcije s radikalima (R[•]).

Prva reakcija s DPPH radikalima odvija se s nekom od fenolnih tvari, ali spora sekundarna reakcija može izazvati progresivno smanjenje absorbance, te se ravnotežno stanje ne može postići nekoliko sati.



Slika 5 Prikaz reakcije DPPH radikala s flavonoidima

Za određivanje antioksidativne aktivnosti primjenjena je metoda po Shimadu i sur. (1992.) s malim modifikacijama (Shimada i sur., 1992.). U kivetu je otpipetirano 0,2 mL uzorka, 2 mL metanola i 1 mL otopine DPPH. Reakcijska smjesa je ostavljena stajati 15 minuta te je apsorbancija mjerena na spektrofotometru pri valnoj duljini od 517 nm. Za slijepu probu umjesto uzorka dodan je metanol.

Antioksidativna aktivnost je izračunata prema slijedećem izrazu:

$$aa (\%) = \left(1 - \frac{A_1}{A_0}\right) * 100$$

gdje je:

A_0 – apsorbancija slijepe probe

A_1 – apsorbancija uzorka.

Analiza arome vina plinskom kromatografijom primjenom SPME analize

Priprema uzoraka za analizu:

Tehnika korištena prilikom pripreme uzorka je tehnika mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME) za koju je neophodna SPME aparatura. Osnova SPME aparature je igla unutar koje se na polimernu stacionarnu fazu adsorbiraju aromatični sastojci. U radu je za pripremu

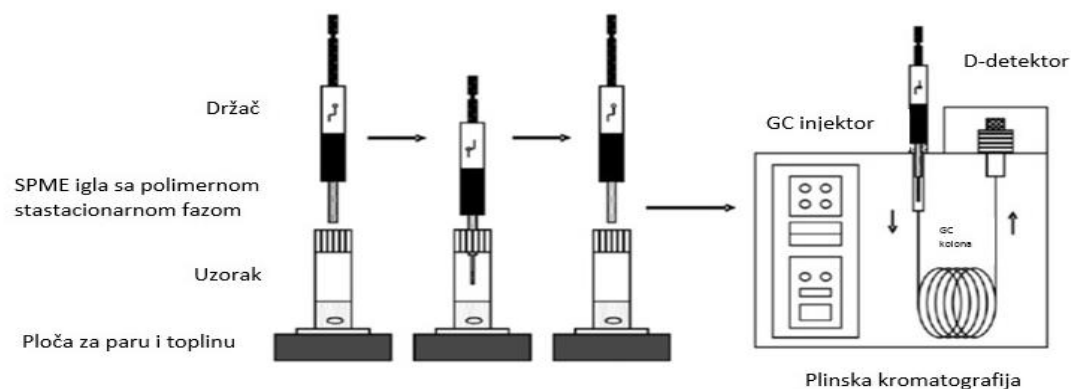
3. Eksperimentalni dio

uzoraka korišteno punilo od polidimetilsiloksana-divinilbenzena (polimerna stacionarna faza) debljine 65 μm .

Postupak pripreme uzorka:

U bočicu od 10 mL odvaže se 5 g uzorka vina. Kako bi adsorpcija aromatičnih sastojaka bila bolja dodaje se 1 g NaCl. U bočicu se ubaci magnet, te se hermetički zatvori teflonskim čepom. Bočica se postavi u vodenu kupelj, te se uz stalno miješanje uzorka magnetskom miješalicom, aromatični sastojci adsorbiraju na polimernu stacionarnu fazu unutar igle. Prije samog ispuštanja igle u nadprostor uzorka, uzorak se 5 minuta miješa na vodenoj kupelji (40 °C) radi zasićenja nadprostora sa svrhom što bolje adsorpcije aromatičnih sastojaka. Adsorpcija se provodi na temperaturi od 40 °C (vodena kupelj) u trajanju od 45 minuta. Po završetku adsorpcije igla s adsorbiranim sastojcima odmah se stavlja u injektor plinskog kromatografa te slijedi njihova toplinska desorpcija.

Određivanje kvantitativnog udjela aromatičnih sastojaka vina od jabuke provedeno je primjenom instrumentalne plinske kromatografije. U radu je korišten plinski kromatograf tvrtke Agilent 7890 B s maseno-selektivnim detektorom Agilent 5977 A.



Slika 6 Korištenje SPME držača za uzorkovanje i analizu

Uvjeti rada plinskog kromatografa:

Parametri ekstrakcije:

- Temperatura ekstrakcije: 40 °C
- Vrijeme ekstrakcije: 45 minuta
- Tip mikroekstrakcijske igle: 65 µm PDMS/DVB (Supelco).

GC-MS analitički uvjeti:

Kolona: HP5; 60 m x 0,25 mm x 0,25 µm (Agilent)

- Početna temperatura: 40 °C (2 minuta)
- Temperaturni gradijent: 6 °C/min

Plin nosač: helij (čistoće 5,0) s protokom 1 mL/min pri 40 °C

- Konačna temperatura: 230 °C
- Temperatura injektora: 250 °C
- Temperatura detektora: 280 °C
- Desorpcija uzorka u injektor: 7 min

U izradi kromatografske analize korišten je splitless mod.

4. REZULTATI

Tablični prikazi rezultata

Tablica 1 Kemijska analiza vina

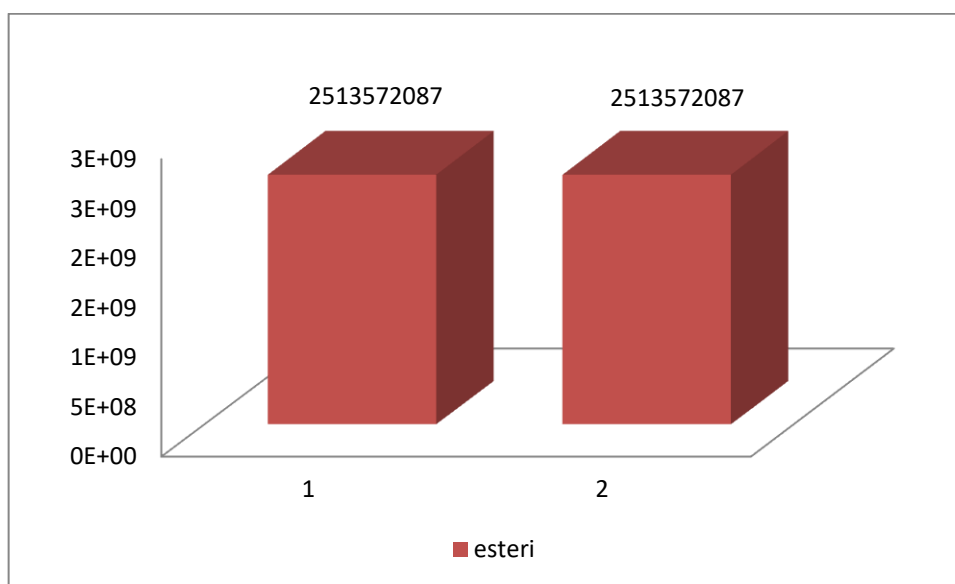
	Cabernet Suvignon (suhi)	Cabernet Sauvignon (polusuhi)
Udio suhe tvari (%)	8,5	12,5
Ukupne kiseline (g/L)	6,300	6,825
Slobodni sumpor (mg/L)	60,80 (40,96)	32,63
Ukupni sumpor (mg/L)	122,88 (122,88)	95,36
Pepeo (g/L)	2,536 (2,552)	4,912
Prirodni šećeri (g/L)	1,20	27,67
Alkohol (vol. %)	14,20	12,31
Ekstrakt (g/L)	33,50	75,0

Tablica 2 Tvari boje u ispitivanom vinu

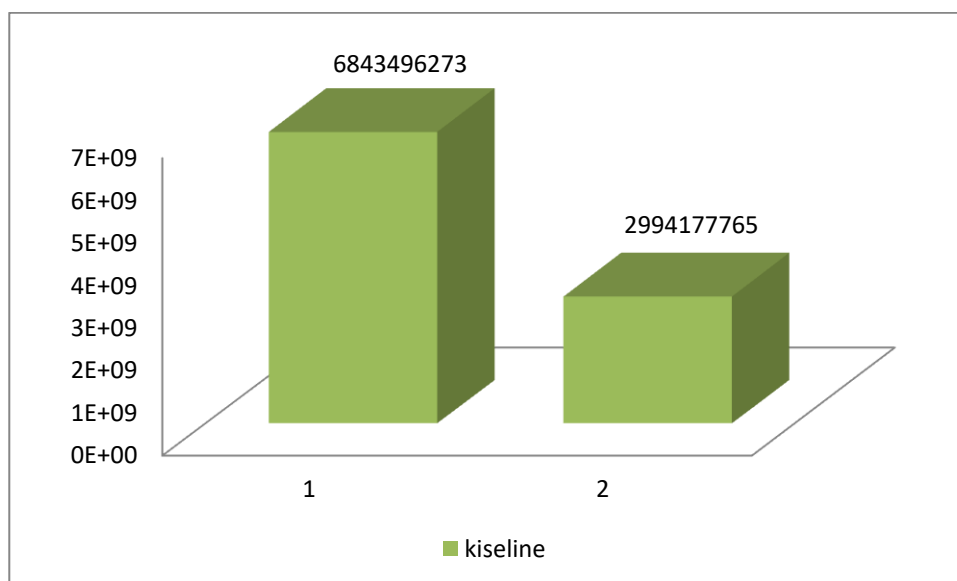
	Cabernet Suvignon (suhi)	Cabernet Sauvignon (polusuhi)
Antioksidacijska aktivnost (mg/100 g)	17,71	68,75
Flavonoidi (mg/L)	536,71	1029,67
Polifenoli (mg/L)	1488,99	2323,44
Antocijani (mg/L)	108,52	61,14
Degradacija antocijana (%)	56,26	62,88

Tablica 3 Retencijska vremena aromatičnih spojeva identificiranih u ispitivanim uzorcima

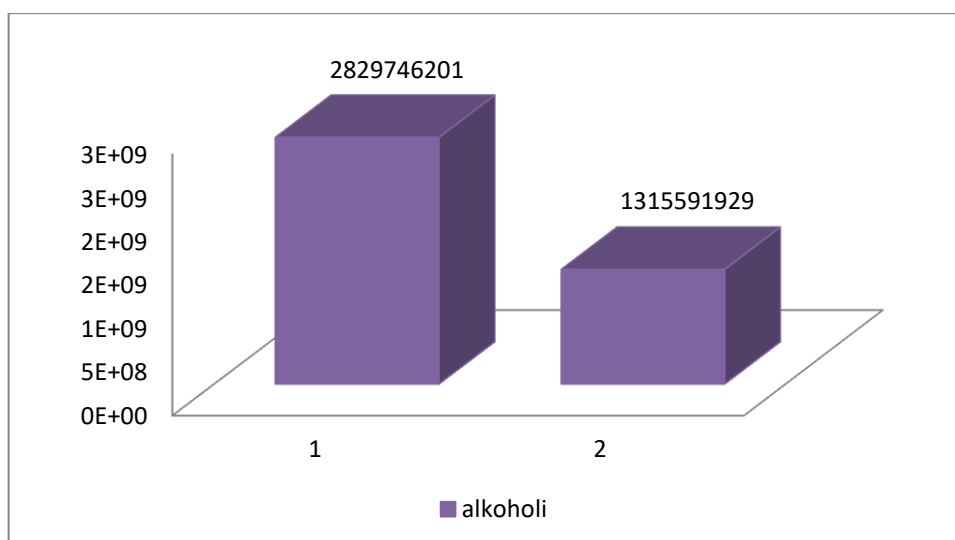
Sastojak	RT (vrijeme pojavnosti pika na kromatogramu)
Esteri	
Etil acetat	3,394
izoamilacetat	8,976
Etilester heksanske kiseline	12,595
Etilester oktanske kiseline	18,122
Etilester nonanske kiseline	20,007
Kiseline	
Propanska kiselina	8,789
Octena kiselina	18,472
Oktanska kiselina	26,531
Sorbinska kiselina	27,509
Dekanska kiselina	29,463
Alkoholi	
3-metil-1-butanol	12,441
4-metil-1-pentanol	15,166
3-heksen-1-ol	17,028
3-oktanol	17,273
2-oktanol	17,854
1-heptanol	18,581
3-etil-4-metilpentanol	19,581
2,3-butandiol	20,087
Terpinen-4-ol	21,095
1-nonanol	21,864
α -terpineol	22,411
1-dekanol	23,173
Benzil alkohol	24,577
2-heptadekanol	25,625
Karbonilni spojevi	
Benzaldehid	19,771
Furfural	18,662
Tetradekanal	27,383
Terpenoidi	
α -ionon	19,893
α -murolen	22,771
Citronelol	23,228
Geraniol	24,186



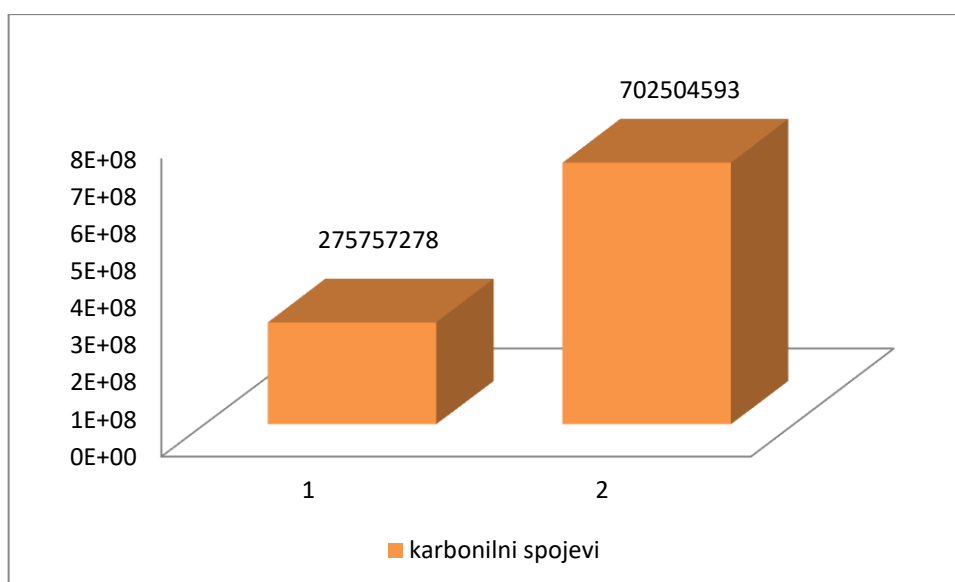
Slika 7 Sadržaj estera u vinu C.Sauvignon suhi (1) i u vinu C.Sauvignon polusuhi (2)



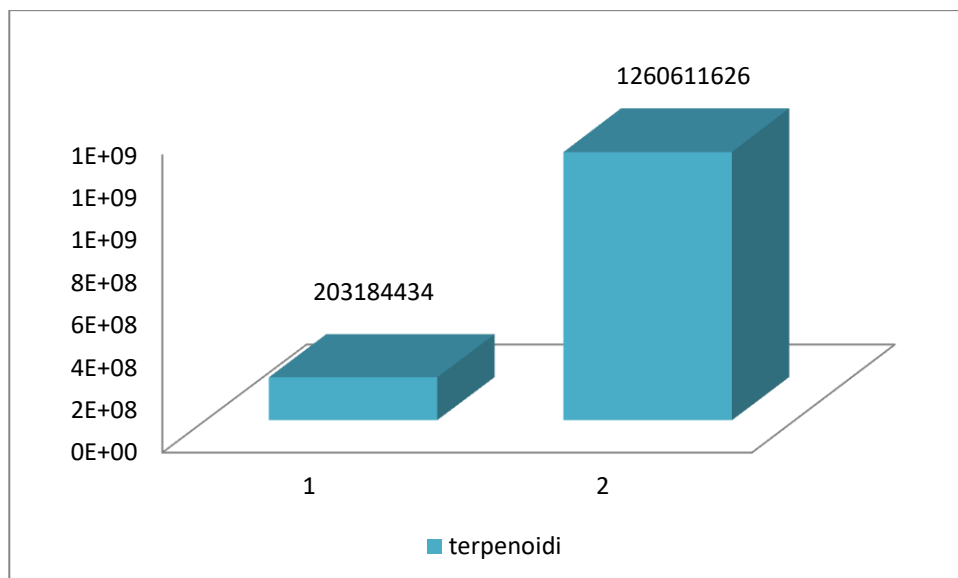
Slika 8 Sadržaj kiselina u vinu C.Sauvignon suhi (1) i u vinu C.Sauvignon polusuhi (2)



Slika 9 Sadržaj alkohola u vinu C.Sauvignon suhi (1) i u vinu C.Sauvignon polusuhi (2)



Slika 10 Sadržaj karbonilnih spojeva u vinu C.Sauvignon suhi(1) i u vinu C.Sauvignon polusuhi(2)



Slika 11 Sadržaj terpenoida u vinu C.Sauvignon suhi(1) i u vinu C.Sauvignon polusuhi(2)

5. RASPRAVA

Rezultati istraživanja utjecaja ranije zaustavljene alkoholne fermentacije na aromatski profil i boju vina sorte Cabernet Sauvignon prikazani su u Tablicama 1, 2 i 3 te na Slikama 7, 8, 9, 10 i 11.

Vina se razlikuju prema kiselosti, alkoholnoj jakosti, količini fenolnih tvari, šećera, suhog ekstrakta te se prema tim kemijskim svojstvima i klasificiraju. Poznavanje kemijskog sastava grožđa, hlapljivih komponenti i ekstrakcije tvari boje od velikog je značaja za kakvoću vina. U Tablici 1 prikazani su rezultati ispitivanja kemijskog sastava vina Cabernet Sauvignon dobivenog potpunom i ranije zaustavljenom fermentacijom.

Ukupne kiseline imaju važnu ulogu u formiranju osvježavajućeg okusa vina, a ujedno služe i za konzervirajuće djelovanje. Iz Tablice 1 vidljivo je da više ukupnih kiselina ima vino dobiveno ranije zaustavljenom fermentacijom u odnosu na potpuno fermentirano vino C. Sauvignon.

Šećeri su jedan od najboljih pokazatelja zrelosti grožđa. Poznavanjem udjela različitih šećera u soku grožđa može se utvrditi patvorenje soka ili gotovog vina (dodavanjem šećera dobivenog od šećerne repe ili trske u sok ili vino). Iz Tablice 1 vidi se da više šećera ima vino C. Sauvignon dobiveno ranije zaustavljenom fermentacijom u usporedbi s potpuno fermentiranim C. Sauvignonom. Razlog leži u činjenici da je ranije zaustavljenom fermentacijom u vinu zaostao visoki udio šećera.

Što se tiče ukupnog ekstrakta, rezultati pokazuju da oba proizvedena vina imaju previsok, gotovo nemoguć sadržaj ukupnog ekstrakta s obzirom na proces proizvodnje vina. Vrlo visoka količina slobodnog SO₂ je neočekivano prisutna u oba vina, jer se, očito, htjela spriječiti mogućnost oksidacije i kvarenja vina, ali se u tome pretjeralo.

U Tablici 2 prikazan je sadržaj polifenola, flavonoida te antioksidacijska aktivnost ispitivanih vina C. Sauvignon.

Fenolne tvari imaju zaštitnu ulogu u organizmu jer uklanjaju slobodne radikale i tako umanjuju njihovo štetno djelovanje. Udio fenola u vinu ovisi o količini prisutnoj u grožđu te o vremenu kontakta kožice i sjemenke grožđa sa sokom tijekom maceracije. Fenoli su važni za izgled i okus vina, a time i njegovu kakvoću. O njihovom sadržaju ovisi gorčina i trpkost vina.

Puno veću koncentraciju polifenola imao je uzorak vina s ranije zaustavljenom alkoholnom fermentacijom, jer se potpunom fermentacijom dio fenolnih tvari gubi, a dio veže sa drugim kemijskim spojevima stvarajući nove.

Iz rezultata u Tablici 2 vidljivo je da sadržaj flavonoida i antioksidacijska aktivnost u ispitivanim vinima slijede trend koncentracije polifenola.

Aromu vina čini niz spojeva različitih vrsta i koncentracija koji nastaju u grožđu tijekom zrenja, a još više tijekom fermentacije i starenja vina. To su različiti esteri, viši alkoholi, masne kiseline, aldehidi, ketoni, terpeni i drugi spojevi. Kombinacija različitih aromatskih tvari važna je za oblikovanje okusa vina te se po njemu ona međusobno razlikuju. Većina se aromatskih tvari iz grožđa gubi tijekom prerade, tako da se glavnina arome oblikuje tijekom fermentacije i odležavanja vina. Viša temperatura fermentacije će proizvesti više estere tijekom proizvodnje vina. Aroma ima značajnu ulogu u kakvoći vina, a hlapljive komponente su odgovorne za miris vina. Iz tog razloga jako je važno razumjeti doprinos svake komponente arome na kakvoću vina.

Kao što se može vidjeti u Tablici 3, u ispitivanim vinima identificiran je trideset i jedan aromatični sastojak. Radi boljeg prikaza pojedinih identificiranih aromatičnih sastojaka, sastojci su podijeljeni u pet skupina. To su esteri, kiseline, alkoholi, karbonilni spojevi i terpenoidi.

Esteri su produkti reakcije acetyl-CoA sa višim alkoholima koji nastaju degradacijom amino kiselina ili ugljikohidrata. Na Slici 7 prikazan je udio estera u ispitivanim vinima. Oba ispitivana vina imala su jednak udio estera. Može se primijetiti kako su etil-esteri masnih kiselina više prisutni od estera viših alkohola. Veća prisutnost gore navedenih estera ukazuje na voćni miris analiziranih vina (Gomez - Miguez i sur., 2007). Etil acetat i izoamil acetat najviše utječu na ukupnu mirisnu notu ispitivanih vina te daju voćni miris i miris banane. Također, esteri s bazom etanola i masnih kiselina kao što su heksanska, oktanska i dekanska općenito doprinose „vinskoj“ aromi.

Kiseline potječu iz sirovine tj. grožđa te nastaju alkoholnom fermentacijom. Na Slici 8 prikazan je udio kiselina u ispitivanim vinima sorte C. Sauvignon. U ispitivanim uzorcima vina identificirano je pet kiselina. Sorbinska kiselina dodaje se u vino radi inhibicije rada kvasca te ima antimikrobno djelovanje. Budući da se pod utjecajem bakterija mliječno kiselog vrenja

sorbinska kiselina razgrađuje te ostavlja osjet neugodnog okusa kušanjem takvog vina, mora se dodatak iste u mlado vino strogo kontrolirati. Dekanska kiselina nema tako velik utjecaj na ukupnu kvalitetu vina, ali ima važnu ulogu u složenosti sastava arome. Vino dobiveno potpunom fermentacijom ima veći sadržaj kiselina u odnosu na vino dobiveno ranije zaustavljenom fermentacijom.

Alkoholi su aromatični spojevi koji nastaju kao sekundarni produkti metabolizma kvasca. U ispitivanim vinima identificirano je 14 alkohola. Iz Slike 9 vidljivo je da potpuno fermentirano vino ima veći sadržaj alkohola u odnosu na vino dobiveno ranije zaustavljenom fermentacijom.

Sadržaj karbonilnih spojeva u ispitivanim vinima prikazan je na Slici 10. Vino dobiveno ranije zaustavljenom fermentacijom ima veći sadržaj karbonilnih spojeva u odnosu na potpuno fermentirano vino. U vinima su nađeni benzaldehid, furfural i tetradekanal. Benzaldehid daje miris na marcipan te je karakterističan za crna cina. Furfural je prisutan u potpuno fermentiranom vinu, dok ga u djelomično fermentiranom nema. Prisutnost tetradekanala dokazuje odležavanje oba ispitivana vina u drvenim bačvama.

Terpeni su kemijski spojevi karakteristični za aromatske sorte i glavni su nositelji primarnih ili sortnih aroma. Koncentracija tih sastojaka u vinu pored toga ovisna je još i o tehnološkom postupku prerade i njege vina, te većeg broja drugih čimbenika kao što su maceracija, ekstrakcija, hidroliza, oksidacija, uporaba bentonita i pektolitičkih enzima.

Sadržaj terpenoida u ispitivanim vinima prikazan je na Slici 11. Vino dobiveno ranije zaustavljenom fermentacijom ima veći sadržaj terpenoida u odnosu na potpuno fermentirano vino. U vinima su nađeni α jonon, α murolen, citronelol i geraniol. Citronelol daje cvjetni miris, geraniol daje određenu mirisnu notu ruže, α jonon miris ljubičastog cvijeća, a murolen sudjeluje u stvaranju slatke mirisne note.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- Procesni parametri (temperatura i vrijeme), kao i tijek alkoholne fermentacije utječu na kemijski sastav ispitivanih vina sorte Cabernet Sauvignon.
- Rezultati ispitivanja pokazali su razlike u sadržaju ispitivanih tvari boje među vinima, jer su ona proizvedena različitim tehnološkim postupkom. Bogatije polifenolima i flavonoidima bilo je vino dobiveno ranije zaustavljenom alkoholnom fermentacijom.
- Iz rezultata istraživanja vidljivo je da su u oba ispitivana vina nađene visokovrijedne hlapljive tvari arome.
- α murolen zastupljen je u oba ispitivana vina, a koristan je u očuvanju zdravlja ljudi.
- Furfural je prisutan u potpuno fermentiranom vinu, dok ga u vinu s ranije zaustavljenom alkoholnom fermentacijom nema, jer se nisu u potpunosti razgradili šećeri pentoze.
- Vino dobiveno ranije zaustavljenom fermentacijom pokazalo je visoku antioksidacijsku aktivnost. To mu daje ulogu zdravog pripravka u primarnoj prevenciji zdravlja ljudi jer pomaže u sprječavanju bolesti krvožilnog sustava i upalnih procesa u organizmu.

7. LITERATURA

- Gomez-Miguez MJ, Cacho JF, Ferreira V, Vicario IM, Heredia FJ: Volatile components of Zalema white wines. *Food Chemistry* 100(4): 1464-1473, 2007.
- Hrvatski sabor: *Zakon o vinu*: Broj: 01-081-03-2098/2, Zagreb, 3. Lipnja 2003. http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2003_06_96_1219.html, pristupljeno 30.08.2017.
- Kelemovic R: Utjecaj membrane i tlaka na kakvocu i protok vina kod ultrafiltracije i mikrofiltracije pločastim modulom. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 1999.
- Maletić E, Karaglan Kontić J, Pejić I: *Vinova loza; ampelografija, ekologija, oplemenjivanje*. Školska knjiga, Zagreb 2008.
- Olvitz M: Dinamika fermentacije u proizvodnji crnog vina sorte Cabernet Sauvignon sa dva različita kvasca. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2008.
- Pichler A: Tehnologija vina. *Nastavni materijali*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2016.
- Planinić M: Utjecaj procesnih parametara na kvalitetu vina Erdutska graševina kod ultrafiltracije pločastim modulom. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 1998.
- Prce V: Sadržaj antocijana, polifenola, flavonoida i antioksidativna aktivnost u crnim vinima slovačkih vinogorja. *Diplomski rad*, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2014.
- Primorac Lj: Kontrola kakvoće hrane. *Interna skripta*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2007.
- Ribereau Gayon, Glories Y, Maujean A, Dudourdieu D: *Handbook of enology – the microbiology of wine and vinifications, second edition*. John Wiley and sons, Chichester, West Sussex, England, 2006.
- S. Muštvic: *Vinarstvo sa enohemijom i mikrobiologijom*. Privredni pregled, Beograd, 1985.
- Skelin I: Izbor i optimalne količine sredstva za bistrenje vina. *Magistarski rad*. Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu, 2009.
- Zoričić M: *Kultura vina*. V.B.Z., Zagreb, 2009.
- Zoričić M: *Podrumarstvo*. Nakladni zavod Globus, Zagreb, 1996.

Web izvori:

Web 1: Ivanović S: Somelijerstvo. *Nastavni materijali*. Fakultet za menadžment u turizmu i ugostiteljstvu, Opatija. <http://lumens.fthm.hr/edata/2011/63fc5ce1-5617-45b3-9bd5-b01d75e3c887.pdf>, pristupljeno 30.08.2017.

Web 2:

https://www.google.hr/search?q=gra%C4%91a+bobice+gro%C5%BE%C4%91a&rlz=1C1AVFC_enHR732HR732&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjRoPnN2_7VAhWHsxQKHdriBfgQ_AUICigB&biw=725&bih=637#imgsrc=bAG-gKKrkfXg3M, pristupljeno 30.08.2017.

Web 3: https://www.veleri.hr/files/datoteke/nastavni_materijali/k_vinarstvo_1/1%20-%20Kemijski%20sastav.pdf, pristupljeno 30.08.2017.

WEB 4: (https://www.veleri.hr/files/datoteke/nastavni_materijali/k_vinarstvo_1/1%20-%20Kemijski%20sastav.pdf), pristupljeno 30.08.2017.

Web 5: http://vinopedia.hr/wiki/index.php?title=Datoteka:Cabernet_sauvignon.jpg, pristupljeno 30.08.2017.

Web 6:

http://studenti.ptfos.hr/Diplomski_studij/Tehnologija_vina/Tehnologija_vina/Tehnologija_vina/Tehnologija_vina/proizvodnja%20crnih%20vina.pdf

Web7: <https://www.udruga-vvv-kaptol.hr/osnove-iz-vinogradarstva-i-podrumarstva.html>, pristupljeno 01.09.2017.

Web8:

https://www.google.hr/search?q=muljanje+i+runjenje&rlz=1C1AVFC_enHR732HR732&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjC-fXZhoLWAhVDXBQKHWTbCqkQ_AUICygC&biw=725&bih=682#imgsrc=MZa2DFmCpg55FM, pristupljeno 01.09.2017.

Web 9:

https://www.google.hr/search?rlz=1C1AVFC_enHR732HR732&biw=725&bih=637&tbm=isch&sa=1&q=runja%C4%8Da&oq=runja%C4%8Da&gs_l=psy-ab.3..0i30k1.47598.48778.0.49038.7.7.0.0.0.0.122.643.1j5.6.0....0...1.1.64.psy-ab..1.6.641...0.pKc0oNDkOQs#imgsrc=BxUh1WwMQ-oIJM, pristupljeno 01.09.2017.

Web 10:

https://www.google.hr/search?q=plinska+kromatografija&rlz=1C1AVFC_enHR732HR732&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjzv8Hry4PWAhUmGZoKHVrBcYQ_AUICigB&biw=725&bih=682#imgsrc=kDPmJLUJYmageM, pristupljeno 01.09.2017.

Web 11:

https://www.google.hr/search?q=plinska+kromatografija&rlz=1C1AVFC_enHR732HR732&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjzv8Hry4PWAhUmGZoKHVCrBcYQAUICigB&biw=725&bih=682#imgsrc=EB3avYiN_PS_2M, pristupljeno 01.09.2017.

Web 12: http://chem.grf.unizg.hr/media/download_gallery/vje%C5%BEba%201..pdf, pristupljeno 01.09.2017.

Web 13: https://www.google.hr/search?q=IMAK-kromatografske-metode20012016.ppt&rlz=1C1AVFC_enHR732HR732&oq=IMAK-kromatografske-metode20012016.ppt&aqs=chrome..69i57j69i60.8267j0j8&sourceid=chrome&ie=UTF-8 01.09.2017.

Web 14: Živčić V: Analitička kemija II. *Nastavni materijali*. PMF, Zagreb, šk. god. 2012./2013, https://www.pmf.unizg.hr/download/repository/5_AK2_ekstr_krom_elektro.pdf pristupljeno 02.09.2017.

Web 15: <http://magazine.colloquium.com/cabernet-sauvignon-obiljezje-sorta-vina/>, pristupljeno 02.09.2017.